Lane Medical Library

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg/Br.
Direktor: Professor Dr. K. Trautwein.

# Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener neuerer Nährböden für die Tuberkelbakterienkultur.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

**Veterinär-medizinischen Fakultät**

der

Hessischen Ludwigs-Universität

zu Gießen

vorgelegt von

**Oskar Rupp**

aus Gemmingen / Baden

Gießen 1933

Druckerei Wilh. Herr

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinär-medizinischen Fakultät
zu Gießen

Referent: Professor Dr. W. Zwick

# Inhaltsübersicht.


Seite

I. Einleitung und Schrifttum . . . . . 5
II. Eigene Versuche . . . . . 12
A. Methodik und Technik . . . . . 13
1. Herstellung der Nährböden . . . . . 13
a) Der Petragnani-Nährboden . . . . . 13
b) Der Z-Nährboden nach Hohn . . . . . 14
c) Der Amino-Einährboden nach Hohn . . . . 15
d) Die Besredka-Eibouillon . . . . . 16
e) Der Sy-Ser (Synthetische Nährflüssigkeit mit 10 % Serumzusatz) nach Kirchner . . . . . 16
f) Der Minas-Ser (Mineralsalz-Asparaginlösung mit 10 % Serumzusatz) nach Kirchner . . . . . 17
g) Die Nährflüssigkeit nach Sauton mit und ohne Glycerin 17
2. Vorbehandlung und Verimpfung des Untersuchungsmaterials . . . . . 17
3. Untersuchung der Kulturen und Färbung der Tuberkelbakterien . . . . . 19
B. Vorversuche mit Reinkulturen des Typus humanus, bovinus und gallinaceus . . . . . 20
C. Kulturversuche mit tuberkelbakterienhaltigen Milchproben . 24
D. Kulturversuche mit tuberkulösen Organen . . . . 26
E. Kulturversuche mit Lungenschleimproben . . . . 30
III. Ergebnisse und Zusammenfassung . . . . . 34
IV. Schriftverzeichnis . . . . . 38
V. Lebenslauf . . . . . 40

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0045

## I. Einleitung und Schrifttum.

Die künstliche Züchtung der Tuberkelbakterien auf festen oder flüssigen Nährböden hat als diagnostisches Hilfsmittel neben der bakterioskopischen Untersuchung und dem Tierversuch früher keine Rolle gespielt. Diese Kultur galt als schwierig, weil das Koch'sche Prinzip der Isolierung und Reinzüchtung der Erreger durch Verwendung fester Nährböden beim Tuberkelbakterium zunächst versagt hat. Seine Isolierung auf den festen Nährboden ist nicht gelungen, weil die Tuberkelbakterien von den viel schneller wachsenden Sekundärkeimen in der Regel überwuchert werden. Es mußte deshalb der Umweg über den Tierversuch eingeschaltet werden, um das Material vom frischgetöteten Laboratoriumstier frei von Sekundärkeimen gewinnen zu können. Aus den steril entnommenen Organen, in der Regel aus der Milz künstlich infizierter Meerschweinchen, ist die Kultur des langsam wachsenden Tuberkelbakteriums zuerst auf dem von Robert Koch[15]) eingeführten schrägerstarrten Rinderserum gelungen. Die Abimpfung der hierauf gewachsenen Kolonien auf die Oberfläche von natursaurer Bouillon war ebenfalls erfolgreich, sie führte nach Wochen dauernder Bebrütung zu einer üppigen Vermehrung der Tuberkelbakterien. In dieser ersten Etappe der Tuberkelbakterienzüchtung wurde die Kultur aber im allgemeinen nur als Mittel zur Massenvermehrung des Erregers zum Zwecke der Tuberkulinherstellung benützt. Auch die Unterschiede zwischen dem stärker wachsenden Typus humanus und dem bovinen Typ kamen auf der Bouillonoberflächenkultur sinnfällig zum Ausdruck, Man machte jedoch von diesen Züchtungsmethoden kaum Gebrauch zu diagnostischen Zwecken, da das Verfahren viel zu umständlich und langwierig ist.

Die Ansicht von den Schwierigkeiten der Tuberkelbakterienzüchtung hat sich in den letzten Jahren gewandelt, und entsprechend hat auch das Kulturverfahren, zunächst allerdings nur zögernd, Eingang in die diagnostische Laboratoriumspraxis gefunden. Als Vorarbeiten hierzu waren außerordentlich zahlreiche und umfangreiche Versuche nach zwei Richtungen erforderlich. Einmal galt es Nährböden zu finden, die für die Vermehrung des nur geringe Wachstums-

freudigkeit besitzenden Tuberkelbakteriums möglichst günstige Bedingungen bieten, sodann waren Mittel und Wege ausfindig zu machen, mit denen es gelingt, ohne die Einschaltung des Tierversuchs das tuberkulöse Material von den sekundären Begleitbakterien zu befreien und dadurch die Tuberkelbakterien zu einer relativen Anreicherung zu bringen.

Als wichtiger Abschnitt auf der Suche nach geeigneten Nährböden ist zunächst die Feststellung von Nocard und Roux[22]) zu nennen, die das Glycerin als wertvollen Nährbodenbestandteil erkannten. Es wird seitdem bei allen gebräuchlichen Nährböden verwendet. Nachdem der Russe Pawlowski[23]) die Kartoffel als brauchbares Substrat für die Vermehrung des Tuberkelbakteriums erprobt hatte, führten Dorset[3]) den Eiernährboden und Lubenau[20]) den Eigelbnährboden in die Technik der Tuberkelbakterienzüchtung ein. In neuerer Zeit wurden zum Studium des sogenannten Verwendungsstoffwechsels auch eiweißfreie Nährmedien, sogenannte synthetische Nährböden, von verschiedenen Autoren angegeben (Lockemann[18]), Sauton[28]) usw.). Diese Versuche führten zu der Erkenntnis, daß die Tuberkelbakterien im Gegensatz zu der früher herrschenden Anschauung keine großen Ansprüche an das Nährsubstrat stellen, sondern mit verhältnismäßig wenigen, chemisch genau bekannten Substanzen auszukommen vermögen. Endlich hat man Tuberkelbakterien auch in Gewebekulturen, beispielsweise mit Milzpulpa von Meerschweinchen zur Vermehrung bringen können [Smith[30])]. Eine praktische Bedeutung für die Diagnose kommt diesem Verfahren allerdings nicht zu.

Die Notwendigkeit einer Konzentration der Erreger in schwach tuberkelbakterienhaltigen Substraten auf ein möglichst geringes Quantum des Untersuchungsmaterials, also einer relativen Anreicherung, hatte sich zunächst bei der mikroskopischen Untersuchung ergeben. Durch Zusatz von Alkalien und chlorhaltigen Präparaten, von Kohlen-Wasserstoffen, Chloroform, Formalin usw. wurde eine Homogenisierung des Untersuchungsmaterials mit nachfolgender Sedimentierung erreicht. Von all diesen Methoden hat sich das von Uhlenhuth und Xylander[32]) ausgearbeitete Antiforminverfahren am besten bewährt.

Letzteres hat sich auch für die Vorbereitung des Materials zum Zwecke der Tuberkelbakterienzüchtung als brauchbar gezeigt, da es die Begleitbakterien abtötet. Als besonders geeignet aber hierfür hat sich die sogenannte Säureabtötungsmethode erwiesen. Sie wurde erstmalig von Sumiyoshi[31]) in eingehenden Versuchen erprobt. Er zeigte, daß selbst erheblichere Säurekonzentrationen die Tuberkelbakterien im Gegensatz zu den Sekundärkeimen nicht vernichten. Das Säureanreicherungsverfahren mit

Salzsäure oder Schwefelsäure stellt einen wesentlichen Bestandteil der modernen Züchtungsmethoden dar.

Die keimtötende Wirkung der verschiedenen Anreicherungsmethoden wird unterstützt durch einen bei den meisten Züchtungsverfahren zur Anwendung gelangenden Zusatz von entwicklungshemmenden Farbstoffen zu den festen oder flüssigen Nährböden. Die Vermehrung der Begleitbakterien soll durch die Farbstoffzusätze zurückgehalten werden, während gleichzeitig das Wachstum der Tuberkelbakterien nicht gehemmt wird. Das Merkmal der neueren festen Nährböden ist fernerhin ihr Gehalt an Eibestandteilen. Es sind hier vor allem die Nährböden nach Petroff[25]), nach Löwenstein[19]). nach Hohn[7, 8, 9]), und nach Petragnani[24]) zu nennen. Um die Einführung flüssiger Eiernährböden hat sich insbesondere Besredka[2]) verdient gemacht. Flüssige, serumhaltige Nährböden sind in letzter Zeit auch von Kirchner[13]) angegeben worden.

Ueber die Ergebnisse von Tuberkelbakterienzüchtungsversuchen nach den verschiedenartigen erwähnten Verfahren ist von vielen Autoren im Schrifttum eingehend berichtet worden. Uebereinstimmung hinsichtlich der Brauchbarkeit der Nährböden wurde aber bis heute nicht erzielt. Jeder Untersucher fand den von ihm angegebenen Nährboden für seine Zwecke jeweils am besten geeignet. Die Nachprüfer beschränkten sich in ihren Versuchen in der Regel ebenfalls auf einen einzigen oder auch zwei gleichzeitig untersuchte verschiedene Nährböden. Nur wenige Autoren führten vergleichende Versuche mit Verwendung mehrerer Nährböden, die mit demselben Material gleichzeitig beimpft wurden, durch.

Isabolinski und Gitowitsch[10]) prüften vergleichend den flüssigen Eiernährboden nach Besredka sowie den festen Nährboden nach Petroff und den nach Zechnowitzer[35]), der eine ähnliche Zusammensetzung besitzt. Sie erhielten jedoch mit keinem dieser Nährböden günstige Ergebnisse. Richters[27]) fand den Lubenau'schen Eiernährboden etwa gleichwertig mit dem von William und Durdick[33]) angegebenen Eiernährböden. Letzterer besitzt ähnlich wie der Petroff'sche Nährboden einen Zusatz von Gentianaviolett. Dagegen bewährte sich in den Versuchen von Richters der Nährboden nach Isabolinski und Gitowitsch, der Ochsenhoden enthält, nicht.

Die meisten neueren Untersucher benützten entweder den festen Eiernährboden nach Petragnani oder nach Hohn. Auch die Besredka-Bouillon ist insbesondere von Wolters[34, 35]) vergleichsweise angewandt worden. Wolters hält den Nährboden nach Petragnani für die Reinzüchtung der Tuberkelbakterien verschiedenen Typs unter Verwendung der Salzsäurevorbehandlung für am besten ge-

eignet, namentlich, wenn es sich um Sputummaterial handelt. Der vergleichsweise mitbenützte Haematin-Einährboden nach Hohn (= Z-Nährboden) ergab nicht so günstige Resultate; er ist dem Petragnani-Nährboden auch deshalb unterlegen, weil letzterer die Differenzierung der verschiedenen Tuberkelbakterientypen mit Leichtigkeit gestattet. Bei der Untersuchung von Milchproben dagegen erwies sich in den Versuchen von Wolters die Besredka-Eibouillon am brauchbarsten.

Nach Sickmüller[29]) gelingt die Züchtung auf dem Z-Nährboden zwar nicht schneller aber sicherer als auf dem Petragnani-Nährboden. Er beschleunigte die Diagnosestellung, indem er die Nährbodenoberfläche mit destilliertem Wasser nach 14 Tagen abschwemmte, zentrifugierte und den Bodensatz mikroskopisch untersuchte.

Klimmer[14]) fand bei der kulturellen Untersuchung von Eiern ein besseres Wachstum auf dem Nährboden von Lubenau. Die Kolonien standen auf dem Petragnani-Nährboden nicht so dicht, waren jedoch auf dem grünen Untergrund besser zu erkennen als auf dem Lubenau'schen Eiernährboden.

In den Versuchen von Bertrand[1]) unter Verimpfung von Milch sowie von tuberkulösen Krankheitsprodukten, die mikroskopisch frei von Tuberkelbakterien waren, befriedigten sowohl der Hohn'sche Nährboden wie auch der Nährboden nach Petragnani.

Vergleichsversuche von Karsten[11]) sowie von Karsten und Frisch[12]) beschäftigten sich zunächst mit den Methoden nach Löwenstein[19]) und Sumiyoshi[31]) sowie nach Lubenau und später auch mit dem Züchtungsverfahren von Hohn und Petragnani. Die Versuche Karstens sind aber mit allen Verfahren nicht sehr günstig ausgefallen. Die Züchtung von Reinkulturen aus Lungenschleimproben gelang ihm auch nicht häufiger als der Nachweis mittels mikroskopischer Untersuchung.

Presch[26]) teilt die Vergleichsversuche mit den Nährböden nach Petragnani, Besredka und Sickmüller mit, die er unter Verimpfung mikroskopisch negativer Proben gleichzeitig mit dem Tierversuch angestellt hat. In Vorversuchen hatte sich der Lubenau'sche Nährboden, sowie der Hohn'sche Haematin-Nährboden nicht bewährt. Presch fand die Besredka-Bouillon am besten. Etwas weniger gute Resultate ergab der Petragnani-Nährboden, während der Sickmüller'sche Nährboden, eine Abart des Lubenauschen Nährbodens mit Malachitgrünzusatz, wenig hinter dem Petragnani-Nährboden zurückblieb. Für praktische Zwecke empfiehlt Presch die gleichzeitige Verimpfung des Materials auf einen festen Nährboden und auf Malachitgrün-

Besredka-Bouillon. Er ist aber der Meinung, daß der Tierversuch beim Tuberkulose-Tilgungsverfahren durch die Kultur nicht ersetzt werden kann, da er des öfteren ein völliges Versagen des Züchtungsversuches beobachtet hat.

L. Lange [16]) gibt aufgrund seiner Erfahrungen den Rat, sich niemals auf eine einzige Nährbodenart zu beschränken, sondern immer zwei oder noch mehr Substrate heranzuziehen. Von den flüssigen Nährböden hat sich ihm der von Sauton [28]) mitgeteilte synthetische Nährboden am meisten bewährt.

Ohne auf die von den Untersuchern im einzelnen erzielten Ergebnisse näher einzugehen, läßt sich somit zeigen, daß Vergleichsversuche in genügendem Umfang und unter Verwendung zahlreicher Methoden und Nährböden, die mit demselben Material gleichzeitig beimpft wurden, bisher noch nicht hinreichend angestellt worden sind. Es wurde mir deshalb die Aufgabe zuteil, diese Lücke auszufüllen und auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Trautwein derartige Versuche im Tierhygienischen Institut durchzuführen.

Ausgangspunkt und Grundlage für meine Untersuchungen waren neben den Angaben der Literatur vor allem die im Institut bereits vorliegenden Erfahrungen in der Tuberkelbakterienzüchtung mit den Nährböden nach Petragnani und Besredka. In der Dissertation von Graf [4]) wurden die Ergebnisse dieser umfangreichen Untersuchungen ausführlich mitgeteilt.

Graf benutzte die Methode, wie sie im wesentlichen von Wolters [34]) ausgearbeitet worden ist. Der Milch, Pepton, Kartoffeln, Eier und Malachitgrün enthaltende Petragnani-Nährboden wurde für die diagnostischen Zwecke nach dem Vorbilde von Wolters ohne Glyzerin verwendet. Die aus Eigelb und destilliertem Wasser bestehende Besredka-Bouillon erhielt ebenfalls einen Zusatz von Malachitgrün.

Mit den genannten Nährböden ist es Graf gelungen, Reinkulturen nicht nur aus mikroskopisch positivem Material zu gewinnen, er konnte vielmehr bei kultureller Verarbeitung von 672 mikroskopisch negativen Sputum-, Milch- und Gebärmuttersekretproben von Tieren, bei denen klinisch hohe Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins offener Tuberkulose vorlag, 183 mal = 27 % der Fälle, Tuberkelbakterien kulturell nachweisen. Als durchschnittliche Versuchsdauer hierbei gibt Graf 28 Tage an. Da die Ergebnisse weitgehend mit denen des Tierversuchs übereinstimmen, schlägt Graf die Anwendung der kulturellen Diagnose in großem Umfang für die Feststellung der offenen Tuberkuloseformen anstelle des Tierexperiments vor, das kostspieliger ist und

längere Zeit in Anspruch nimmt. Obwohl der Petragnani'sche Nährboden sich der Besredka-Bouillon gegenüber im allgemeinen überlegen zeigte, empfiehlt Graf beide Methoden stets parallel anzuwenden, da in einigen Fällen, in denen die gesamten Petragnani-Kulturen verschimmelt waren, die Diagnose mit Hilfe des Besredka-Nährbodens doch noch gestellt werden konnte.

Neben den beiden genannten Nährböden, die sozusagen als Standardmethode für meine Versuche dienten, benützte ich weiterhin den von vielen Autoren empfohlenen Haematin-Eiernährboden nach Hohn, von letzterem kurz Z-Nährboden genannt.

Hohn[7]) hat als erster gezeigt, daß tuberkulöses Material nach der Säurebehandlung mit der Methode von Sumiyoshi[31]) ohne vorheriges Auswaschen der Säure direkt auf den Einährboden übertragen werden kann. Er benützte zunächst den Lubenau'schen Nährboden, der später modifiziert wurde und als Z-Nährboden aus 3 Teilen Dotter und Eiweiß, 1 Teil 10 %iger Glyzerinbouillon, 2 % Haemoglobin und einem Malachitgrünzusatz von 1 : 4000 besteht.

In jüngster Zeit hat Hohn[9]) eine neue Modifikation seines Nährmediums, den sogenannten Amino-Einährboden, bekannt gegeben, der sich in den Untersuchungen Hohns sehr gut bewährt hat. In Parallelversuchen mit dem Z-Nährboden war letzterer hinsichtlich Wachstumsintensität der Kolonien dem neuen Nährboden sichtlich unterlegen. Auch die Unterschiede zwischen dem Typus humanus und Typus bovinus traten auf dem Amino-Einährboden besonders deutlich hervor. Der humane Typ wächst üppig, kammartig und trocken, während der Typus bovinus ganz flach wächst und kautschukartige Konsistenz annimmt. Der neue Nährboden Hohn's besitzt den Vorzug der Einfachheit. Er besteht nur aus Eimischung und der Lockemann'schen synthetischen Flüssigkeit mit einem Zusatz von 0,7 % Malachitgrün. Deshalb wurde der Amino-Einährboden in meine Versuche einbezogen, zumal Nachprüfungen, namentlich von tierärztlicher Seite, bisher nicht vorliegen.

Als flüssige Nährböden kamen in meinen Versuchen ergänzend zu der Besredka-Bouillon zunächst 2 von Kirchner[13]) angegebene Nährböden und zwar die synthetische Nährflüssigkeit mit 10 % Serum, die von Kirchner kurz als „Sy-Ser" bezeichnet wird und ein zweiter Kirchner'scher Nährboden, die sogenannte Mineralsalz-Asparagin-Lösung mit 10 %igem Serumzusatz, von Kirchner kurz als „Minas-Ser" bezeichnet, hinzu.

Kirchner betont mit Recht, daß die Züchtung des Tuberkelbakteriums unter Verwendung flüssiger Nährböden

sich nicht in gleicher Weise wie die Züchtung auf den festen Einährböden entwickelt habe. Die früher üblichen Medien, namentlich die Glyzerinbouillon, aber andererseits auch die synthetischen Nährflüssigkeiten, gestatten ein Wachstum des Tuberkelbakteriums nur auf der Nährbodenoberfläche. Das Anlegen derartiger Oberflächenkulturen ist technisch nicht einfach und praktisch nur möglich, wenn man bereits von Reinkulturen ausgeht. Da ferner die Oberflächenkultur bei der Besichtigung leicht zerstört wird, kommt diese Methode für die praktische Tuberkulosediagnostik nicht in Frage. Für diese Zwecke ist nur die Bakterienzüchtung in der Tiefe hierfür brauchbarer flüssiger Nährböden geeignet, die ohne Schwierigkeiten mit dem zu untersuchenden Material in der üblichen Weise beimpft werden können.

Kirchner fand derartige Nährböden in der Kombination aus synthetischen Nährflüssigkeiten mit Serumzusatz, die billig und leicht hergestellt werden können. Kirchner ging aus von der Lockemann'schen synthetischen Nährlösung, die aus einer Lösung von Natrium und Kalium phosphoricum, ferner von Magnesium sulfuricum und Magnesiumcitrat sowie von Alanin und Asparagin in destilliertem Wasser besteht. Beim sogenannten Sy-Ser kommen zu dieser etwas abgeänderten Flüssigkeit 10 % Serum sowie 2 % Glyzerin. Der sogenannte Minas-Ser ist ähnlich zusammengesetzt, enthält aber kein Glyzerin.

Kirchner rühmt bei seinen Nährböden gegenüber der von ihm ebenfalls brauchbar gefundenen Besredka-Bouillon die größere Stabilität, während sie im Wachstum der Tuberkelbakterien den festen Einährboden nicht nachstehen. Schon 1 oder 2 Keime sollen im Sy-Ser zur Vermehrung führen. Das Wachstum ist in Form von zunächst sehr feinen, später stecknadelkopfgroßen, weißgrauen Körnchen am Boden des Kulturröhrchens innerhalb 6 bis 21 Tagen makroskopisch erkennbar. Die Flüssigkeit selbst bleibt stets klar. Der Sy-Ser zeigt bei fortschreitendem Tiefenwachstum auch Neigung zu sekundärem Oberflächenwachstum. Es bildet sich dann ein Bakterienhäutchen, das aber bald zu Boden sinkt.

In dreijährigen Versuchen wurden die Nährböden von Kirchner neben den gebräuchlichen festen Nährmedien nach Hohn und Löwenstein, zeitweise auch nach Petroff und Petragnani verwendet. Am besten bewährte sich ihm dabei der Sy-Ser, wenn er auch den Eiernährböden im praktischen Gebrauch für diagnostische Zwecke nicht völlig gleichkommt. Es empfiehlt sich deshalb nach den Erfahrungen Kirchners den Sy-Ser neben den festen Nährböden parallel zu verwenden.

Untersuchungen von tierärztlichen Autoren mit den Kirchner'schen Nährböden liegen nicht vor. Mit Rücksicht auf die von Kirchner erzielten günstigen Ergebnisse erschien eine Nachprüfung im tierärztlichen Laboratorium angezeigt, zumal die Nährböden sehr leicht und billig herzustellen sind.

Schließlich erschien es für meine Untersuchungen zweckmäßig, auch einen noch einfacher und billiger herzustellenden Nährboden ohne Serum und ohne Eierzusatz mitzuprüfen. Ein derartiges Nährmedium wurde in dem synthetischen Nährboden nach Sauton, der neuerdings besonders durch die Untersuchungen von L. Lange[16]) Bedeutung erhalten hat, gefunden. Der Nährboden hat nach der Mitteilung von Lange die Glycerinbouillon in seinem Laboratorium fast ganz verdrängt. Durch Verwendung dieses nur aus glycerinhaltiger Lösung verschiedener Salze bestehenden Nährbodens ist es dem genannten Autor gelungen, bei Stämmen des Typus humanus eine sogenannte „Viridansvariante" abzutrennen, die eine starke Grünfärbung der Sauton-Flüssigkeit bewirken soll. Derartige Grünstämme haben bei den Untersuchungen Langes anläßlich der Lübecker Impfkatastrophe erstmalig eine Rolle gespielt. Es erschien von Interesse, das etwaige Vorkommen von Viridansvarianten auch beim Typus bovinus nachzuprüfen. Die Untersuchungen von Lange selbst mit 45 Tuberkelbakterienstämmen boviner Herkunft sind negativ verlaufen. Von tierärztlicher Seite sind Züchtungsversuche größeren Umfangs mit der Sauton-Flüssigkeit bis jetzt nicht veröffentlicht.

## II. Eigene Versuche.

Mit den erwähnten festen 3 Eiernährböden und den 5 flüssigen Nährmedien habe ich meine Versuche unter Verimpfung mikroskopisch tuberkelbakterienhaltigen Materials sowie hauptsächlich von mikroskopisch negativen Proben durchgeführt. Ein stichhaltiges Urteil über die praktische Verwendbarkeit von Nährböden für diagnostische Zwecke ist erfahrungsgemäß nur möglich bei Beimpfung mit Material, das Tuberkelbakterien in der verschiedensten Menge enthält. Bei technisch einwandfreier Beimpfung mit stark tuberkelbakterienhaltigen Proben gibt wohl jeder Nährboden in der Regel ein positives Resultat. Zur Einarbeitung in die Technik sind Versuche mit solchem Material zweckmäßig. Derartige Proben werden aber auch praktisch durch die mikroskopische Untersuchung bereits ermittelt; entscheidend für unser Urteil sind deshalb die Züchtungsergebnisse mit mikroskopisch ganz negativem Material.

## A. Methotik und Technik.

Bei der Technik, insbesondere bei der Herstellung der Nährböden, hielt ich mich im allgemeinen eng an die von den einzelnen Autoren gegebenen Vorschriften. Abweichungen sind im folgenden jeweils vermerkt.

### 1. Herstellung der Nährböden.

Nach den Erfahrungen von Wolters empfiehlt es sich, beim Herauszüchten des Typus bovinus aus dem Einsendungsmaterial Nährböden ohne Glycerinzusatz zu verwenden, da die bovinen Tuberkelbakterien im Gegensatz zu dem Typus humanus ohne Glycerin besser gedeihen. Nur für die Zwecke der Typendifferenzierung ist der Glycerinzusatz zu den Nährböden angezeigt. Ich habe infolgedessen bei den festen Nährböden das Glycerin ganz weggelassen und bei den flüssigen Nährmedien nur vereinzelt verwendet.

#### a) Der Petragnani-Nährboden.

In der Dissertation von Graf[4]) sind genaue Mitteilungen enthalten, wie der Petragnani-Nährboden in allen Einzelheiten zweckmäßig herzustellen ist. Ich gebe diese Angaben, nach denen ich mich genau gerichtet habe, im folgenden wieder.

„Zu 300 ccm Milch, in der 12 g Kartoffelmehl kalt gelöst sind, gibt man 2 g Pepton und 2 mittelgroße, in Stücke geschnittene Kartoffeln. Das Ganze wird unter ständigem Schütteln etwa 10 Minuten im Wasserbad bei etwa 100 ° C gehalten, wodurch die in der Milch befindlichen Kartoffeln ich teilweise auflösen, sodaß eine Verkleisterung erfolgt. Wenn diese eingetreten ist, läßt man den Glasbehälter noch eine Stunde im Wasserbad oder im Dampftopf bei 100 ° C. Inzwischen werden 10 frische Eier gründlich mit Alkohol gereinigt, und der ganze Inhalt von 8 Eiern sowie 2 Eigelb wird mit Glasperlen geschüttelt, bis die Dottermasse vollständig aufgelöst ist. Bei Nährböden für die Typendifferenzierung werden hierzu noch 24 ccm Glycerin hinzugefügt. Nach einer Stunde nimmt man den Kolben mit obiger Mischung aus dem Dampftopf heraus, kühlt ihn auf ungefähr 50 ° C ab und fügt zu der abgekühlten Masse die Eiflüssigkeit sowie 20 ccm einer 2 %igen wässerigen Malachitgrünlösung (Malachitgrün extra, chemisch rein, Leverkusen) hinzu. Das Ganze wird kräftig geschüttelt, bis eine gleichförmige Masse entsteht. Vor allem müssen auch die ab und zu fest am Boden des Glasgefäßes haftenden Kartoffeln sich losgelöst haben. Darauf wird die Nährbodenlösung durch ein engmaschiges Sieb filtriert, und das Filtrat mittels eines Heißwassertrichters in sterile Reagenzgläser abgefüllt. Beim Abfüllen der Röhrchen ist darauf zu achten, daß unter Vermeidung von Blasenbildung möglichst senkrecht abgefüllt wird, um ein Verschmieren der Wand des Reagenzglases durch den Nährboden zu vermeiden, weil sich dieser Uebelstand bei der späteren Beobachtung der Kulturen störend bemerkbar macht.

Vorteilhaft werden die Röhrchen nicht gleich nach dem Abfüllen in den Erstarrungsapparat verbracht, sondern erst eine halbe Stunde lang kühl gestellt, bis die Luftbläschen, die sich beim Abfüllen bilden, verschwunden sind. Bei der sofortigen Erstarrung würden diese Luftbläschen platzen und an der betreffenden Stelle jedesmal ein kleines Loch im Nährboden zurücklassen, Das Beimpfen der Kulturen mit einer sol-

chen durchlöcherten Oberfläche ist schwierig, und auch die spätere Beobachtung der Kulturen wird dadurch wesentlich beeinträchtigt. Das Erstarrenlassen des Nährbodens in Schräglage wird an 2 aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommen; am 1. Tag bei 85 ° C solange, bis der Nährboden beim Beklopfen fest erscheint, am 2. Tag bei 75 ° C ungefähr ¾ Stunden lang. Die Methode hat den Vorteil, daß sich in den Röhrchen etwas mehr Kondenswasser bildet als bei dem nur einmaligen Erstarren. Bei Röhrchen mit wenig Kondenswasser wurde solches vor dem Beimpfen in Form von etwa 0,5 ccm natursaurer Bouillon zugesetzt. Nach der Erstarrung sollen die Nährböden eine möglichst glatte, spiegelblanke Oberfläche haben".

## b) Der Z-Nährboden nach Hohn.

Die von Hohn gegebene Vorschrift mit ihren bis ins einzelne gehenden Angaben habe ich, abgesehen von der Haemoglobingewinnung und dem Glycerinzusatz, genau innegehalten.

### I. Natursaure Bouillon (ohne jeden Alkalizusatz).

1. 10 g Fleischextrakt (Liebig) und 5 g Kochsalz werden in 1 Liter Aqua dest. bei leichter Erwärmung (ca. 60 °) gelöst.

2. 10 g Pepton werden mit geringer Menge der vorstehenden Lösung im Mörser fein angerührt. Dann weitere Zugabe obiger Lösung unter Verreibung. Die Peptonanrührung wird zur Fleischextraktbrühe zugegossen. Zur völligen Lösung ½ Stunde in den Dampftopf, dann filtrieren. Weitere 40 Minuten unter Druck bei 110 ° C sterilisieren.

3. Abfüllen der Bouillon in 50 ccm Kölbchen zu 30 bis 40 ccm (Kondensbouillon).

4. Nachsterilisieren dieser Kölbchen eine Viertelstunde bei 110 ° C.

### II. Eimischung.

1. 3 ganz frische Eier werden an den Polen mit Alkohol abgerieben und mit sauberem Messer eingeknickt.

2. Ausblasen der Eier in ein steriles Pulverglas mit Glasperlen.

3. Gute Mischung von Dotter und Eiweiß durch ca. 5 Minuten langes Schütteln. Starke Schaumbildung ist dabei zu vermeiden.

### III. Malachitgrünlösung.

1 g Malachitgrün extra, chem. rein, der J. G. Farbenindustrie, Leverkusen, wird in einem 150 ccm Kölbchen mit 100 ccm Aqu. dest. übergossen und gut gemischt. Stehenlassen der Farbmischung zur weiteren Lösung 24 Stunden lang im Brutschrank. Filtrieren in eine sterile Flasche. Die 1 %ige Lösung kann bis zum Aufbrauch benutzt werden.

### IV. Haemoglobinbereitung.

Für die Haemoglobingewinnung benützte Hohn die zur Wassermann-Reaktion eingesandten Blutproben. Derartige Blutproben standen mir nicht zur Verfügung; ich verwandte deshalb Blut, das steril vom Rind oder vom Hammel sowie von schlachtmäßig entbluteten Schweinen entnommen wurde. (4 mal Schweineblut, 2 mal Rinderblut, 1 mal Hammelblut). Bei 2 Versuchen ließ ich das Blut gerinnen und gewann das Haemoglobin nach der Hohn'schen Vorschrift aus dem Blutkuchen. Im weiteren Verlauf der Versuche jedoch wurde die Blutgerinnung durch Zusatz von Natriumcitrat verhindert. Anschließend erfolgte die Ausschleuderung der roten Blutkörperchen durch 10 Minuten dauerndes Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen in der Minute. Das Serum wurde abgenommen, und aus dem Rückstand erfolgte die Haemoglobingewinnung durch Zusatz eines gleichen Teiles sterilisierten destillierten Wassers. Die Aufbewahrung der fertigen Haemoglobinlösung geschah im Kühlkeller, wobei die Lösung innerhalb 4 Tagen reifte.

### B. Herstellung der Z-Eimischung.

1. Abmessen der Eimenge in einem sterilen Meßcylinder. 3 Eier ergeben im Höchstfalle ca. 160 ccm. Uebergießen in ein steriles 300-Kölbchen.

2. Zufügen von 2 % gereifter Haemoglobinlösung und gut durchmischen.

3. Zufügen von 5 ccm der 1 %igen Malachitgrünlösung zu dem vorrätig gehaltenen Kölbchen mit 50 ccm natursaurer Glycerinbouillon. Gut durchmischen.

4. Zufügen dieser Malachitgrün-Bouillion zur Eimischung mit Haemoglobin in der Menge von 1/3 der ursprünglichen Eimischung, z B. primäre Eimenge 150 ccm, dann zuerst Zusatz von 3 ccm Haemoglobinlösung. Gut mischen Darauf Zusatz von 50 ccm der Malachitgrün-Bouillion. Gut mischen. Die Farbe der Eimischung ist nun dunkelgrün, und das Ganze enthält Malachitgrün 1 : 4000.

### C. Koagulation der Z-Eimischung.

1. Abfüllen der Z-Eimischung in sterile Reagenzgläser, die mit gewickelten sterilen Zellstoffstopfen verschlossen sind; nach dem Augenmaß etwa 6—7 ccm senkrecht einfüllen zur Vermeidung von Beschmutzung des Reagenzglashalses.

2. Einstellen der fertiggefüllten Röhrchen 1/2 Stunde in den Kälteschrank, am besten bei einer Temperatur von 2—3° C.

3. Koagulieren in dem Koagulationsschrank nach Lautenschläger bei 79—83° C, 30 Minuten lang. Die Röhrchen werden schräg gelegt, sie müssen durch eine Luftschicht voneinander getrennt sein. In die unterste Etage kommt ein offenes Schälchen mit Wasser. Nach dem Entnehmen werden die Nährböden am besten durch Beklopfen der Röhrchen auf ihre Festigkeit geprüft. Nicht genügend koagulierte Röhrchen kommen in den Schrank zurück, wo sie nochmals 10 bis 15 Minuten lang bei 83° C verbleiben.

### D. Verschluß der Röhrchen.

1. Zeresin flüssig machen.

2. Eintauchen des Zellstoffstopfens in das heiße Zeresin. Das Zeresin muß dabei schäumen, damit es gut in die Stopfen eindringt. Aufsetzen des Stopfens unter Schräghalten des Röhrchens mit drehender Bewegung.

3. Unmittelbar nach dem Aufsetzen wird das Röhrchen außen am Hals von etwa anhaftenden Zeresinresten mit einem Tuch durch Abwischen gereinigt.

### E. Zufügen der Kondensbouillon.

1. Abnehmen des Zellstopfens nach leichtem Erwärmen des Reagenzglashalses in Serien von je 6 Röhrchen. Einspannen der Stopfen in Deckglaspinzetten mit dem Kopf auf dem Arbeitstisch.

2. Vorsichtiges Einfüllen der Kondensbouillon mit steriler Pipette, ca. 0,8 ccm an der dem Nährboden entgegengesetzten Seite.

3. Aufsetzen des mit Zeresin imprägnierten Zellstoffstopfens nach Anwärmen des Reagenzglases.

4. Vermerken des Tages der Herstellung der Z-Eiröhrchen mit Blaustift am Halse des Röhrchens.

In meinen Versuchen benützte ich anstelle der von Hohn empfohlenen 10 %igen Glycerinbouillon eine einfache natursaure Bouillon. Die Koagulation erfolgte in einem mit Gas geheizten Erstarrungsapparat von Lautenschläger, Berlin, und nicht in dem von Hohn eigens konstruierten elektrisch geheizten Koagulationsschrank. In der Regel vergingen 1 1/4 Stunden, bis der Nährboden genügend erstarrt war.

## c) Der Amino-Einährboden nach Hohn.

Abgesehen vom Verzicht auf Glycerinzusatz stellte ich den Amino-Einährboden genau nach der Vorschrift Hohns her. Aus 4 Eiern, Dotter und Eiweiß, werden 165 ccm Eimischung wie beim Z-Nährboden abge-

messen. Dazu kommt der Inhalt eines Kölbchens synthetischer Flüssigkeit, der zuvor 5 ccm einer 0,7%igen Malachitgrünlösung zugesetzt werden. Dann wird bei 83° koaguliert, zuparaffiniert und Kondensbouillon zugefügt.

Die Zusammensetzung der Lockemann'schen synthetischen Flüssigkeit schreibt Hohn folgendermaßen vor:

Auf 500 ccm Aqu. dest. kommen:

1,5 Natrium phosphoricum, $Na_2HPO$ nach Sörensen
2,0 Kalium phosphoricum $KH_2PO$ nach Sörensen
0,3 Magnesiumsulfat
1,25 Magnesiumcitrat
2,0 Alanin
3,0 Asparagin.

Die Substanzen müssen in der angegebenen Reihenfolge in 500 ccm ca. 80° heißem destillierten Wasser einzeln gelöst werden. Die folgende Substanz darf jeweils erst dann zugefügt werden, wenn die vorangegangene gelöst ist. Hierauf wird die Lösung in kaltem Wasser auf 20° abgekühlt und in Kölbchen zu je 50 ccm abgefüllt. Die Kölbchen werden 2mal bei 100° C 35 Minuten lang sterilisiert, mit Papierhüllen überbunden und bis zur Verwendung im Eisschrank aufbewahrt. Auf diese Weise hält sich die synthetische Flüssigkeit längere Zeit.

Ich habe den Amino-Einährboden ebenso wie den Z-Nährboden 7mal hergestellt. Die fertigen Nährböden selbst müssen möglichst umgehend innerhalb 2—3 Wochen verbraucht werden, da die alten ausgetrockneten Einährböden sich für die Züchtung nicht mehr eignen.

## d) Die Besredka-Eibouillon.

Bei der Herstellung der Besredka-Eibouillon befolgte ich das von Graf erprobte Rezept.

„2 Eigelb werden mit Glasperlen geschüttelt und mit 100 ccm destilliertem Wasser gemischt. Dazu gibt man nach und nach soviel einer 1%igen Sodalösung, bis die Eiflüssigkeit in der Pipette transparent erscheint. Der Verbrauch der Sodalösung zur Klärung der Eiflüssigkeit ist sehr verschieden und hängt von den verwendeten Eiern ab. Am zweckmäßigsten wird bei der Herstellung von größeren Mengen Besredka-Bouillon zuerst eine kleinere Menge geklärt, etwa 10 ccm, und danach der Verbrauch an Sodalösung auf die ganze Menge umgerechnet. Bis zur völligen Durchsichtigkeit werden nicht selten 4—6 ccm Sodalösung benötigt. Bei Verwendung kleinerer Mengen Sodalösung bleibt die Flüssigkeit trüb, was eine Beobachtung von Tuberkelbakterienwachstum sehr erschwert. Darauf wird die Flüssigkeit mit destilliertem Wasser bis 700 ccm aufgefüllt und zu 1% mit einer 2%igen wässerigen Malachitgrünlösung versetzt, in Reagenzgläser abgefüllt und an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 1½ Stunden sterilisiert. Beim Abfüllen in Reagenzgläser wird die Besredka-Bouillon zur Vermeidung störender Bodensätze durch einen Papierfilter filtriert."

Im ganzen verwendete ich in meinen Versuchen 4 verschiedene Herstellungen der Besredka-Bouillon. Die Nährböden wurden bis zum Gebrauch ebenfalls im Kühlschrank aufbewahrt.

## e) Der Sy-Ser (Synthetische Nährflüssigkeit mit 10% Serum) nach Kirchner.

Die synthetische Nährflüssigkeit hat folgende Zusammensetzung:

3 g Dinatriumphosphat, 4 g Monokaliumphosphat, 0,6 g Magnesiumsulfat, 2,5 g Natriumcitrat, 5 g Asparagin und 20 ccm Glycerin werden in 1000 ccm Aqu. dest. gelöst. Die fertige Nährflüssigkeit wird sterilisiert und in abgefüllten Mengen zu je 90 ccm, 180 ccm und 450 ccm vorrätig gehalten. Beim Gebrauch wird die einem Gehalt von 10% entsprechende Menge Serum, also 10 ccm, 20 ccm oder 50 ccm hinzugefügt. Der Nähr-

boden ist jetzt fertig und wird unter sterilen Kautelen in Mengen von etwa 6 ccm in Röhrchen abgefüllt.

Nach Kirchner kann sowohl Menschen- wie auch Kaninchen- oder Rinderserum verwendet werden. Ich benützte in meinen Versuchen 8mal Rinder- und 2mal Hammelserum, das steril gewonnen wurde. Vor dem Gebrauch wurde es ebenfalls nach der Vorschrift von Kirchner 30 Minuten im Wasserbad bei 60—62° C inaktiviert.

### f) Der Minas-Ser (Mineralsalz-Asparagin-lösung mit 10%igem Serumzusatz) nach Kirchner.

Im Minas-Ser sind nach der Vorschrift von Kirchner dieselben Bestandteile enthalten wie im Sy-Ser, jedoch wird der Glycerinzusatz weggelassen. Auch für diesen Nährboden habe ich Hammel- (2mal) und Rinderserum (8mal) abwechselnd benützt. Es wurden für die Versuche also insgesamt 10 verschiedene Herstellungen der Kirchner-Nährböden verwendet.

### g) Die Nährflüssigkeit nach Sauton.

Der von Sauton angegebene synthetische Nährboden wurde folgendermaßen hergestellt:

In 940 g Aqua dest. werden unter Erwärmung nacheinander folgende Bestandteile gelöst:

4,0 Asparagin
60,0 Glycerin
2,0 Acidum citricum
0,5 Zweibasisches Kaliumphosphat
0,5 Magnesiumsulfat
0,05 Eisenammoniumcitrat

Nach der vollständigen Lösung des Asparagins und der Salze wird die Flüssigkeit durch Zusatz reinen Ammoniaks mit Hilfe des Komparators nach Michaelis auf ein PH von 7,2 eingestellt. Anschließend kommt die Nährflüssigkeit für 35 Minuten zur Sterilisation in den Dampftopf. Nach dem Abfüllen in Reagenzröhrchen werden diese am folgenden Tag nochmals während 35 Minuten im Dampf bei 110° C sterilisiert. Die Aufbewahrung der Röhrchen erfolgte im Kühlraum.

Neben diesem Sauton-Orginalnährboden mit Glycerin benützte ich eine in derselben Weise gewonnene Sauton-Flüssigkeit ohne Glycerin. Die Herstellung dieser beiden Nährböden erfolgte insgesamt 3mal.

Von allen Nährböden wurden nach der Herstellung jeweils eine Anzahl Röhrchen 48 Stunden lang im Brutschrank zur Kontrolle der Sterilität bebrütet.

## 2. Vorbehandlung und Verimpfung des Untersuchungsmaterials.

Zur Beimpfung der genannten 8 Nährböden dienten Reinkulturen der 3 Tuberkelbakterientypen, humanus, bovinus und gallinaceus, ferner Organproben, in denen bereits mikroskopisch mehr oder weniger zahlreich Tuberkelbakterien nachzuweisen waren, und solche mit mikroskopisch negativem Befund, sowie schließlich Milch- und Lungenschleimproben, die ebenfalls teils mikroskopisch nachweisbare Tuberkelbakterien enthielten, teils mikroskopisch negativ waren.

Die Vorbehandlung sämtlicher Proben zwecks Abtötung der Begleitbakterien erfolgte einheitlich nach dem Säureverfahren mit 15 %iger offizineller Salzsäure, die nach den vergleichenden Versuchen von Graf u. a. Autoren sich für diesen Zweck am geeignetsten erwiesen hat. Im einzelnen ging ich folgendermaßen vor.

Die tuberkulösen Herde aus Organen bezw. Lymphknoten wurden im sterilen Mörser zerkleinert und unter Zusatz der Säure zu einem dünnen Brei angerieben. Nach dem Umgießen desselben in sterile Fläschchen wurden die Proben jeweils 20 Minuten im Schüttelapparat geschüttelt, um eine möglichst gute Vermischung des Materials und eine Berührung aller Teile mit der Salzsäurelösung herbeizuführen. Anschließend erfolgte die Ausschleuderung der festen Bestandteile durch 5 Minuten dauerndes Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen in der Minute. Die Flüssigkeit wurde sodann abgegossen, und es schloß sich die möglichst schnelle Verimpfung des Zentrifugats in der noch zu schildernden Weise an.

Auf analoge Art ging ich bei der Behandlung der Milch- und Sputumproben vor. Bei genügend Material wurden die Milchproben in Mengen von 25 bis zu 100 ccm auszentrifugiert; Bodensatz und Rahm dienten sodann für die Säurebehandlung und Verimpfung.

Die Lungenschleimproben zeigten in ihrer Zusammensetzung sehr große Verschiedenheiten. Die Entnahme erfolgt in Baden durch die Bezirkstierärzte unter ausschließlicher Verwendung des Lungenschleimfängers. Die so gewonnenen Proben bestehen günstigenfalls aus Schleim und Eiter; häufig aber werden rein wässerige Proben eingeschickt, die mehr oder weniger viel Futterbestandteile enthalten. Bei derartigen Proben gelingt eine restlose Abtötung der Begleitbakterien trotz sorgfältigster Vorbehandlung nicht immer.

Sämtliche Sedimente wurden ohne vorheriges Auswaschen der Säure auf die Nährböden verimpft, wobei ich jeweils 2 Röhrchen derselben Nährbodenart benützte. Die Verimpfung erfolgte mit der Oese. Bei den festen Nährböden ist darauf zu achten, daß das Material gut in den Nährboden einmassiert wird, wobei jedoch ein Aufreißen der Nährbodenoberfläche sorgfältig vermieden werden muß. Das gelingt am besten mit vollkommen gleichmäßigem, pastenartigen Material. In den flüssigen Nährböden muß das eingebrachte Material so fein wie möglich verteilt werden, um etwaige Verwechslungen von Schleimflocken mit Kulturwachstum zu vermeiden. Die malachitgrünhaltigen Nährböden zeigen an der Beimpfungsstelle mehr oder weniger starke, blaugrüne Verfärbung, die jedoch in der Regel nach 24 Stunden wieder verschwunden ist.

Der Verschluß der Tuberkulosekulturröhrchen soll nach Angabe von Wolters[34, 45]) sowie von Helm[5]) am zweckmäßigsten mit sogenannten Helmkappen erfolgen, die eine schädliche Austrocknung des Nährbodens verhindern, gleichzeitig aber auch den Gasaustausch ermöglichen. In vergleichenden Versuchen konnte Graf[4]) diesen Befund nicht bestätigen. Er hatte gleich gute Ergebnisse beim Verschluß der Kulturröhrchen mit Wattestopfen und aufgetropftem verflüssigten Paraffin. Mit Ausnahme der Hohn'schen Kulturen habe ich deshalb die Röhrchen ebenfalls stets mit Watte und Paraffin verschlossen. Hohn schreibt den Verschluß mit gerollten Zellstoffstopfen vor, die zuvor in flüssiges Paraffin zu tauchen sind. Eine Ueberlegenheit dieser Methode über den Watteverschluß konnte ich nicht feststellen.

## 3. Untersuchung der Kulturen und Färbung der Tuberkelbakterien.

Die Kulturen wurden im Brutschrank bei 37° C gehalten. Vom 6. bis 10. Tage ab erfolgte eine in der Regel alle 2 Tage wiederholte makroskopische sowie, ausgenommen die mit Reinkulturen beimpften Röhrchen, mikroskopische Kontrolle. Die makroskopische Besichtigung wurde durch Lupenbetrachtung ergänzt. Für die mikroskopische Untersuchung entnahm ich das Material von der Oberfläche des Nährbodens in der Nähe des Kondenswassers sowie aus dem Kondenswasser selbst. In den flüssigen Nährböden dienten die auf eingetretenes Wachstum hindeutenden, in der sonst klaren Flüssigkeit mehr oder weniger zahlreich vorhandenen, durchschnittlich stecknadelkopfgroßen Körnchen als Untersuchungsmaterial, das vorsichtig mit der Oese entnommen werden mußte. Die Färbung der Ausstriche erfolgte nach der Methode von Ziehl-Neelsen, die ich auch bei der mikroskopischen Untersuchung des Ausgangsmaterials angewandt habe. Sie wurde bei der Untersuchung der Milchproben durch die Färbung nach Spengler ergänzt, die sich nach den Erfahrungen des Tierhygienischen Instituts als besonders brauchbar für die Zwecke der mikroskopischen Milchuntersuchung erwiesen hat.

Das Aussehen sowie die Größe der Tuberkelbakterien, die auf künstlichen Nährböden gewachsen sind, unterscheiden sich häufig nicht unwesentlich von den in den tuberkulösen Ausscheidungen oder im Tierkörper enthaltenen Erregern. Das gilt namentlich für die Keime aus flüssigen Kulturen. Sie zeigen in der Regel keinen zusammenhängenden Bakterienleib. Letzterer besteht vielmehr aus einer Aneinanderreihung mehr oder weniger

großer, körnchenförmiger, hell- bis dunkelrot gefärbter Gebilde. Nicht selten haben einzelne Individuen mehr als die doppelte übliche Größe. Im positiven Sinne wurde die Diagnose aufgrund der mikroskopischen Untersuchung nur dann entschieden, wenn nicht einzelne säurefeste Stäbchen, sondern in größeren Häufchen und in flüssigen Kulturen auch strähnenartig angeordnete, dicht beieinander liegende Haufen kennzeichnend aussehender und gefärbter Bakterien nachgewiesen werden konnten.

### B. Vorversuche mit Reinkulturen des Typus humanus, bovinus und gallinaceus.

In Vorversuchen arbeitete ich zunächst mit Reinkulturen der verschiedenen Tuberkelbakterientypen, um mir einen Ueberblick über die Wachstumserscheinungen der verschiedenen Typen bei den einzelnen Nährböden zu verschaffen, wobei ich mir bewußt war, daß Versuche mit Reinkulturen allein kein zuverlässiges Bild über die praktische Verwertbarkeit von Nährböden für die Tuberkulosediagnose abzugeben vermögen. Für diesen Zweck sind Versuche mit möglichst vielseitigem Ausgangsmaterial erforderlich. Ich verwendete zunächst je einen 4 Wochen alten Stamm vom Typus humanus, bovinus und gallinaceus, die mit Ausnahme des ersteren im Institut aus tuberkulösem Material auf dem Petragnani-Nährboden herausgezüchtet worden waren und nun auf je 2 Röhrchen jedes Nährbodens übertragen wurden. Dieser Versuch wurde in einer 2. Serie in derselben Weise wiederholt. Außer diesen Versuchsreihen mit Petragnani-Kulturen, habe ich sodann noch eine Reihe mit Kulturen, die auf dem Z-Nährboden bezw. Amino-Einährboden gezüchtet waren, angelegt, um so das Moment der Bakteriengewöhnung an einen bestimmten Nährboden zu berücksichtigen und Unterschiede in dieser Hinsicht möglichst auszugleichen. Es wurde bei den Reinkulturen zunächst ohne mikroskopische Untersuchung das Auftreten makroskopischen Wachstums abgewartet. Nur bei den flüssigen Kulturen habe ich in allen Fällen mikroskopisch untersucht.

Tabelle I.

Wachstum der Tb. des Typus humanus nach Tagen:

| Versuch Nr. | Petragnani | Z-nährboden | Amino-Einährb. | Besredka-Bouillon | Sy-Ser | Minas-Ser | Sauton mit Glyc. | Sauton ohne Glyc. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 8 | 12 | 12 | 8 | 8 | 8 | 8 | 10 |
| 2 | 6 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 | 8 | 14 |
| 3 | 8 | 8 | 8 | 6 | 6 | 6 | 6 | 8 |
| Durchschnitt | 7,3 | 10 | 10 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 10,6 |

Es trat somit auf sämtlichen Nährböden Wachstum der verimpften Reinkulturen auf. Unterschiede, wenn auch nicht sehr weitgehender Art, waren hinsichtlich des Zeitraums festzustellen, innerhalb dessen die stattgehabte Vermehrung makroskopisch in Erscheinung trat. So war im 1. Versuch frühestens am 8., spätestens am 12., im 2. Versuch frühestens am 6., spätestens am 14. und im 3. Versuch frühestens am 6., spätestens am 8 Tage nach der Verimpfung das Wachstum zu erkennen. Im Durchschnitt betrug die Wachstumsdauer beim Petragnani-Nährboden 7,3 Tage, beim Z-Nährboden 10 Tage, beim Amino-Einährboden gleichfalls 10 Tage, bei der Besredka-Bouillon, beim Sy-Ser, beim Minas-Ser und beim Sauton mit Glycerin jeweils 7,3 Tage, beim Sauton ohne Glycerin 10,6 Tage. Der wachstumsfördernde Einfluß des Glycerins in der Original-Sauton-Nährflüssigkeit war demnach unverkennbar.

Die Wuchsformen des Typus humanus auf den einzelnen Nährböden waren folgende: Auf dem Petragnani-Nährboden war ein üppiges, trockenkrümeliges, der Oberfläche eines Streuselkuchens ähnliches Wachstum festzustellen, wobei der Kulturrasen selbst, sowie meistens auch die oberen Teile des Nährbodens allgemein eine goldgelbe Farbe annahmen. Die Wuchsform auf dem Z-Nährboden ähnelte der auf dem Amino-Einährboden; sie trat in Form eines üppigen, kammartig höckerigen Rasens auf, der nach 2—3 Wochen immer trockener und weißlich-gelb wurde. Die flüssigen Nährböden blieben klar, das Wachstum gab sich in Form kleiner und größerer weiß-grauer Körnchen oder Bröckel sowie auch gleichmäßiger Membranen am Boden des Nährbodenröhrchens zu erkennen. Die zusammenhängenden Membranen zerteilten sich beim Schütteln ebenfalls in einzelne Körnchen, ohne die Flüssigkeit selbst zu trüben. Außerdem entwickelte sich beim Sy-Ser in der Regel, beim Minas-Ser vereinzelt sekundäres Oberflächenwachstum auf der Flüssigkeit in Form eines zahlreiche Tuberkelbakterien enthaltenden Häutchens.

Die Versuche mit dem Typus bovinus nahmen folgenden Verlauf:

Tabelle II.

Wachstum der Tb. des Typus bovinus nach Tagen:

| Versuch Nr. | Petragnani | Z-nährboden | Amino-Einährb. | Besredka-Bouillon | Sy-Ser | Minas-Ser | Sauton mit Glyc. | Sauton ohne Glyc. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 12 | 12 | 8 | 8 | 8 | 16 | 10 |
| 2 | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 | 14 | 10 |
| 3 | 10 | 10 | 12 | 8 | 8 | 8 | 16 | 8 |
| Durchschnitt | 10 | 10,6 | 11,3 | 8 | 8 | 8 | 15,3 | 9,3 |

Es sind also auch die mit dem Typus bovinus angelegten Kulturen sämtlich gewachsen. Das Wachstum war auf den einzelnen Nährböden zeitlich wieder verschieden aufgetreten, im ganzen gab sich die geringere Wachstumsfreudigkeit des bovinen Typs gegenüber dem Typus humanus deutlich zu erkennen. Am frühesten trat Wachstum nach 8 Tagen, am spätesten nach 16 Tagen auf. Die durchschnittlichen Zahlen waren für den Petragnani-Nährboden 10, Z-Nährboden 10,6, Amino-Einährboden 11,3, Besredka-Bouillon, Sy-Ser und Minas-Ser je 8, Sauton mit Glycerin 15,3 und Sauton ohne Glycerin 9,3 Tage. Die flüssigen Nährböden übertrafen demnach hinsichtlich der Wachstumsgeschwindigkeit der Kulturen großenteils die festen Nährmedien. Besonders auffällig war die schnelle Vermehrung in der einfach zusammengesetzten Sauton-Nährflüssigkeit ohne Glycerin, während das Wachstum in dem stark glycerinhaltigen Original-Sauton bedeutend später sinnfällig wurde. Es ist bekannt, daß der Typus bovinus im Gegensatz zu den anderen Tuberkelbakterientypen durch das Glycerin im Wachstum nicht gefördert sondern gehemmt wird (Wolters u. a.). Diese Erfahrung wird durch das vorliegende Ergebnis ebenfalls bestätigt. Von den festen Nährböden war der Petragnani der günstigste, wobei der Z-Nährboden ihm wenig nachstand.

Die Kulturen des Typus bovinus wuchsen auf allen 3 festen Nährböden im Vergleich zum Typus humanus bedeutend weniger üppig. Auf dem Petragnani-Nährboden bildete der bovine Typ entweder spärliche gelblichweiße, meist feuchtglänzende Kolonien, oder einen dünnen, gelben, schleierartigen Belag, während er auf den beiden Nährböden nach Hohn in Form von winzigen, runden, dicht beieinanderliegenden und wenig deutlichen Erhabenheiten auftrat. Auch wurden ganz flache, dünne, feuchtglänzende Bakterienrasen beobachtet. Im allgemeinen war der Z-Nährboden für das Wachstum des Typus bovinus günstiger als der Amino-Einährboden. In den flüssigen Nährböden waren größere Unterschiede der Wuchsformen gegenüber dem Typus humanus im allgemeinen nicht nachweisbar. In der Regel trat auf dem Sy-Ser, seltener dagegen auf dem Minas-Ser wieder sekundäres Oberflächenwachstum in Form eines dünnen Häutchens auf.

Die Versuche mit dem Typus gallinaceus sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

## Tabelle III.

Wachstum der Tb. des Typus gallinaceus nach Tagen:

| Versuch Nr. | Petragnani | Z-nährboden | Amino-Ei-nährbod. | Besredka-Bouillon | Sy-Ser | Minas-Ser. | Sauton mit Glyc. | Sauton ohne Glyc. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 8 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | 6 | 6 | 8 | 8 | 6 | 6 | 8 | 8 |
| 3 | 6 | 8 | 8 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Durchschnitt | 6,6 | 8 | 8,6 | 7,3 | 6,6 | 6,6 | 7,3 | 7,3 |

Sämtliche beimpften Röhrchen sind gewachsen, erhebliche Zeitunterschiede bei den einzelnen Nährböden traten im allgemeinen nicht auf; insgesamt wurde die Erfahrung von der dem Typus gallinaceus eigenen erheblichen Wachstumsintensität bestätigt. Die durchschnittlichen Zeiten betrugen 6,6 bis 8,6 Tage. Bei den festen Nährböden bewährte sich der Petragnani-Nährboden, bei den flüssigen der Sy-Ser sowie der Minas-Ser am besten. Auf allen 3 war das Wachstum durchschnittlich nach 6,6 Tagen feststellbar.

Die stärkere Vermehrungsfähigkeit des Typus gallinaceus äußerte sich in Form eines starken Kulturrasens auf den festen Nährböden, die im Vergleich zu den beiden anderen Typen sich durch eine schleimig-schmierige Beschaffenheit auszeichnete. Die Petragnani-Kultur zeigte, nicht selten auch einschließlich der obersten Nährbodenschicht, eine strohgelbe Verfärbung. Die Wuchsformen in den flüssigen Nährmedien ließen nur in der Besredka-Bouillon Abweichungen von den Befunden bei den anderen Bakterientypen erkennen. Der Typus gallinaceus zeichnete sich übereinstimmend mit den Erfahrungen anderer Autoren in der Besredka-Bouillon durch ein zopfartiges Wachstum aus; beim Schütteln bewegt sich die weiß-graue Kulturmasse im Zusammenhang in der sonst klaren Flüssigkeit.

Das Gesamtergebnis der Vorversuche mit Reinkulturen zeigt somit, daß alle 8 vergleichsweise benützten festen und flüssigen Nährböden für die Vermehrung der Tuberkelbakterien geeignet sind. Die von anderen Autoren gefundenen Wuchsformen konnten für die einzelnen Nährmedien bestätigt werden. Als besonders geeignet für die Unterscheidung der Typen hat sich hierbei der Petragnani-Nährboden erwiesen. Die für eine praktische Verwendbarkeit ebenfalls stark ins Gewicht fallenden zeitlichen Verhältnisse bei der Vermehrung der Tuberkelbakterien auf den einzelnen Nährböden werden durch die folgende Tabelle zusammenfassend dargestellt.

Tabelle IV.

Tage der durchschnittlichen Wachstumsdauer (makroskop.).

| Typen | Petragnani | Z-nährboden | Amino-Einährbod. | Besredka-Bouillon | Sy-Ser | Minas-Ser | Sauton mit Glyc. | Sauton ohne Glyc. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hum. | 7,3 | 10 | 10 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 10,6 |
| Bov. | 10 | 10,6 | 11,3 | 8 | 8 | 8 | 15,3 | 9,3 |
| Gall. | 6,6 | 8 | 8,6 | 7,3 | 6,6 | 6,6 | 7,3 | 7,3 |
| Durchschnitt | 8 | 9,5 | 10 | 7,5 | 7,3 | 7,3 | 10 | 9,1 |

Bei Berücksichtigung der Zeiträume, die bis zum Sichtbarwerden des Tuberkelbakterienwachstums verstrichen sind, hat sich bei den festen Nährböden für den Petragnani die geringste Durchschnittszeit ergeben; dem Durchschnitt von 8 Tagen stehen 9.5 Tage beim Z-Nährboden sowie 10 Tage beim Amino-Einährboden gegenüber. Unter den flüssigen Nährböden ergaben sich für den Sy-Ser sowie für den Minas-Ser im Durchschnitt jeweils 7,3 Tage, für den Besredka- 7,5 Tage und für den Sauton-Nährboden 9,1 bezw. 10 Tage. Immerhin sind für die tierärztlichen Verhältnisse die Resultate am wichtigsten, die mit dem Typus bovinus erhalten wurden. Hier war der beste Nährboden ebenfalls der Petragnani mit einem Durchschnitt von 10 Tagen, während in den Nährflüssigkeiten und zwar in der Besredka-Bouillon, im Sy-Ser und im Minas-Ser bereits nach 8 Tagen makroskopisch Wachstum nachgewiesen werden konnte. Insgesamt waren somit bei den Versuchen mit Reinkulturen sehr erhebliche Unterschiede, qualitativer und zeitlicher Art bei den einzelnen Nährböden nicht nachweisbar.

## Kulturversuche mit tuberkelbakterienhaltigen Milchproben.

Ich ging nunmehr zu den Versuchen mit Milchproben über, die in ganz verschieden großer Zahl mikroskopisch nachweisbare Tuberkelbakterien enthielten. Die Milchproben waren im Rahmen des Tuberkulosetilgungsverfahrens an das Institut eingesandt worden. Die Verimpfung erfolgte in der einleitend geschilderten Weise nach Salzsäurevorbehandlung. Sie hatte folgendes Ergebnis.

## Tabelle V.

### Tage der durchschnittlichen Wachstumsdauer.

| Nährboden | 10 | | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | | 20 | 22 | | 24 | | 26 | | 28 | | 30 | | 32 | | Summe | | Kein Wachstum | | Durchschnitt | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | | | | | Mi | Ma |
| Petragnani | 3 | | 3 | | 2 | | | | 1 | 3 | 1 | 4 | | 1 | | | | | | 1 | | | | 1 | 10 | 10 | — | — | 13,2 | 21,6 |
| Z-Nährboden | 4 | | 4 | | 1 | 2 | | 2 | 1 | 2 | | 3 | | | | | 1 | | | | | | | | 10 | 10 | — | — | 12,0 | 18,2 |
| Amino-Einährb. | 4 | | 4 | | 2 | 1 | | 1 | | 4 | | 3 | | | | | 1 | | | | | | | | 10 | 10 | — | — | 11,6 | 18,8 |
| Besredka-Bouillon | 1 | | 4 | | 1 | 1 | 1 | | | 3 | 2 | 3 | | | | 1 | | 2 | | | | 1 | | | 10 | 10 | — | — | 15,4 | 21,6 |
| Sy-Ser | 1 | | 1 | | 1 | 1 | 1 | | 1 | 1 | | 2 | | 1 | | | | | | | | | | | 5 | 5 | 5 | | 14,0 | 18,8 |
| Minas-Ser | 1 | | 3 | | 2 | 1 | 1 | | | 3 | | 3 | | | | | | | | | | | | | 7 | 7 | 3 | | 12,9 | 18,3 |
| Sauton mit Glyc. | | | 1 | | | 1 | 1 | | | | 1 | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | 3 | 3 | 7 | | 16,0 | 19,3 |
| Sauton ohne Glyc. | 1 | | 2 | | | 1 | 1 | | 1 | 1 | | 2 | | 1 | | | | | | | | | | | 5 | 5 | 5 | | 11,6 | 15,2 |

Mi = mikroskopisch, Ma = makroskopisch.

Es hat sich in dieser Versuchsreihe vor allem gezeigt, daß die Verimpfung der Milchproben, die sämtlich mikroskopisch positiv waren, nur auf einem Teil der Nährböden in jedem Fall zu einer Reinkultur geführt hat, und zwar auf dem Petragnani-, dem Z-Nährboden, dem Amino-Einährboden und der Besredka-Bouillon. Die übrigen flüssigen Nährböden haben zum Teil versagt, am meisten der Original-Sauton-Nährboden mit Glycerin, mit dem nur bei 3 Milchproben Wachstum erzielt werden konnte. Bei keinem Nährboden war makroskopisches Wachstum vor dem 14. Tage nach der Beimpfung feststellbar, während mikroskopisch die Mehrzahl der Proben bereits am 10. sowie am 12. Tage Kulturwachstum aufwies. Die Untersuchung wurde 32 Tage lang fortgesetzt. Die kürzeste durchschnittliche Wachstumszeit hatte der Amino-Einährboden aufzuweisen, bei dem nach 11,6 Tagen mikroskopisch und nach 18,8 Tagen makroskopisch Wachstum feststellbar war. Der Petragnani hatte demgegenüber 1½ bezw. 3 Tage längere Wachstumsdauer benötigt. Bei der Besredka-Bouillon betrugen die Durchschnittszahlen 15,4 bezw. 21,6. Es hat sich somit in diesen Versuchen eine gewisse zeitliche Ueberlegenheit des Amino-Einährbodens ergeben. Zuverlässig zeigten sich die beiden anderen festen Nährböden ebenfalls, wenn auch der Zeitpunkt bis zum Wachstumsnachweis durchschnittlich bis zu 3 Tagen später war. Es trat ferner deutlich die Ueberlegenheit der Besredka-Bouillon über die übrigen Nährflüssigkeiten hervor, die nur in einem Teil der Fälle ein positives Resultat ergaben.

### D. Kulturversuche mit tuberkulösen Organen.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Eignung der verschiedenen Nährböden für den Nachweis des Tuberkelbakteriengehalts in verschiedenen Organen vergleichsweise geprüft. Es handelte sich hierbei um folgende 20 Organproben:

1. Euterlymphknoten vom Rind mit strahliger Verkäsung; mikroskopisch positiv.
2. Eutergewebe vom Rind mit käsiger Mastitis; mikroskopisch positiv.
3. Bronchiallymphknoten vom Rind, mit alten verkästen, zum Teil verkalkten tuberkulösen Herden; mikroskopisch positiv.
4. Mediastinallymphknoten vom Rind mit strahliger Verkäsung; mikroskopisch positiv.

5. Bronchiallymphknoten vom Rind mit mehreren erbsengroßen, verkästen, tuberkulösen Herden; mikroskopisch positiv.
6. Lungengewebe vom Rind mit erbsen- bis hühnereigroßen, verkästen, tuberkulösen Herden; mikroskopisch positiv.
7. Lungengewebe vom Rind mit multiplen, walnußgroßen, erweichten, tuberkulösen Herden; mikroskopisch positiv.
8. Lungengewebe vom Rind, mit wenig zahlreichen, walnußgroßen, teils verkästen, teils verkalkten Herden; mikroskopisch positiv.
9. Eileiter vom Rind, käsige Salpingitis tuberculosa; mikroskopisch positiv.
10. Milz vom Huhn mit Miliartuberkulose; mikroskopisch positiv.
11. Milz vom Meerschweinchen, multiple, hirsekorngroße, gelbe Knötchen: mikroskopisch positiv.
12. Eileiter und Eierstock vom Huhn in diffuser, tuberkulöser Umwandlung; mikroskopisch positiv.
13. Eutergewebe vom Rind mit käsiger Miliartuberkulose; mikroskopisch negativ.
14. Euterlymphknoten vom Rind mit verkästen und verkalkten Herden; mikroskopisch negativ.
15. Bronchiallymphknoten vom Rind mit strahliger Verkäsung; mikroskopisch negativ.
16. Darmlymphknoten vom Schwein mit wenigen verkästen Herden; mikroskopisch negativ.
17. Portallymphknoten vom Rind mit miliaren, verkalkten Herden; mikroskopisch negativ.
18. Bronchiallymphknoten vom Rind mit wenig zahlreichen verkästen Herden; mikroskopisch negativ.
19. Lungengewebe vom Rind mit großknotiger Allgemeintuberkulose, Herde verkäst und verkalkt; mikroskopisch negativ.
20. Walnußgroßer Knoten von Scheidenschleimhaut des Rindes, im Innern rahmartiger, gelber Eiter: mikroskopisch negativ.

Die Organe wurden nach Vorbehandlung mit Salzsäure verimpft. Die positiven Proben zeitigten hierbei folgendes Ergebnis:

Tabelle VI.

| Lfd. Nr. | Untersuch.-Material | Petragnani | | Z-nährbod. | | Amino-Einährbod. | | Besredka-Bouill. | | Sy-Ser | | Minas-Ser | | Sauton mit Glyc. | | Sauton ohne Glyc. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma |
| 1 | Euterlymphknot. v. Rind | 12 | 14 | 12 | 14 | 12 | 14 | 12 | 16 | 12 | 16 | 16 | 20 | — | — | — | — |
| 2 | Eutergewebe v. Rind | 12 | 16 | 12 | 14 | 12 | 14 | 12 | 16 | 12 | 16 | 12 | 16 | 20 | 26 | 20 | 26 |
| 3 | Bronchiallymphknoten v. Rind | 12 | 20 | 12 | 20 | 16 | 20 | 16 | 20 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 4 | Mediastinallymphknoten v. Rind | 20 | 28 | 12 | 14 | 12 | 20 | 12 | 16 | 20 | 26 | 20 | 26 | — | — | — | — |
| 5 | Bronchiallymphknoten v. Rind | 10 | 22 | 10 | 22 | 12 | 22 | 22 | 26 | — | — | 20 | 24 | 20 | 24 | 20 | 24 |
| 6 | Lungengewebe v. Rind | 10 | 22 | 12 | 22 | 10 | 22 | 20 | 24 | 10 | 16 | — | — | — | — | — | — |
| 7 | Lungengewebe v. Rind | 10 | 22 | 10 | 20 | 18 | 22 | 22 | 30 | 22 | 30 | 22 | 30 | — | — | — | — |
| 8 | Lungengewebe v. Rind | 30 | 36 | 22 | 26 | 18 | 26 | 30 | 34 | 18 | 24 | 18 | 24 | 18 | 24 | 16 | 22 |
| 9 | Eileiter v. Rind | 12 | 22 | 12 | 18 | 12 | 24 | 12 | 18 | 12 | 18 | 12 | 18 | 12 | 18 | 12 | 18 |
| 10 | Milz v. Huhn | 12 | 22 | 12 | 18 | 12 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 11 | Milz vom Meerschweinchen | 18 | 30 | 10 | 18 | 18 | 22 | 10 | 18 | 10 | 18 | 10 | 18 | 10 | 18 | 18 | 24 |
| 12 | Eierstock v. Huhn | 10 | 18 | 10 | 18 | 10 | 20 | 10 | 18 | 20 | 24 | — | — | — | — | — | — |
| Durchschnitt | | 14 | 22,6 | 12,1 | 18,6 | 13,5 | 20,6 | 15,8 | 21,5 | 14,8 | 21 | 15,7 | 22 | 15,3 | 22 | 16,3 | 22 |

Als zuverlässig haben sich genau wie bei der Untersuchung der Milchproben nur die 3 festen Nährböden sowie die Besredka-Bouillon erwiesen. Sie lieferten in allen 12 Fällen Reinkulturen der mikroskopisch positiven Organproben. Von den Nährflüssigkeiten versagte der Sy-Ser 2 mal, der Minas-Ser 3 mal, während beide Sauton-Flüssigkeiten in 6 Fällen kein Wachstum zeigten. Zeitlich übertraf der Z-Nährboden, auf dem durchschnittlich bereits 12,1 Tage mikroskopisch bezw. 18,6 Tage nach der Verimpfung makroskopisch Kulturwachstum nachgewiesen werden konnte, die beiden anderen festen Nährböden, sowie sämtliche flüssigen Nährmedien.

Die mit den mikroskopisch negativen Organproben angelegten Kulturen zeitigten folgendes Ergebnis:

## Tabelle VII.

Tage der durchschnittlichen Wachstumsdauer.

| Untersuchungsmaterial | Petragnani | | Z-nährbod. | | Amino-Einährbod. | | Besredka-Bouill. | | Sy-Ser | | Minas-Ser | | Sauton mit Glyc. | | Sauton ohne Glyc. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma |
| 1. Eutergewebe v. Rind | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2. Euterlymphknoten v. Rind | 25 | 32 | 16 | 30 | 22 | 30 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3. Bronchiallymphknoten v. Rind | 27 | 30 | 15 | 18 | 18 | 22 | 18 | 30 | — | — | 18 | 30 | — | — | — | — |
| 4. Darmlymphknoten v. Rind | 18 | 35 | 10 | 27 | 18 | 27 | 22 | 27 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5. Portallymphknoten v. Rind | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6. Bronchiallymphknoten v. Rind | — | — | 25 | 35 | — | — | 30 | 35 | — | — | 30 | 35 | — | — | — | — |
| 7. Lungengewebe v. Rind | 25 | 38 | 25 | 35 | 25 | 35 | 30 | 35 | — | — | 25 | 35 | — | — | — | — |
| 8. Scheide v. Rind | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Durchschnitt | 23,7 | 33,7 | 18,2 | 29 | 20,7 | 28,5 | 25,0 | 31,7 | — | — | 24,3 | 33,3 | — | — | — | — |

Bei 5 von 8 verimpften Proben konnte somit durch den Kulturversuch der Gehalt an Tuberkelbakterien nachgewiesen werden. Am zuverlässigsten waren wiederum die festen Nährböden, speziell der Z-Nährboden, der in einem Falle ein positives Resultat lieferte, in dem der Petragnani- sowie der Amino-Einährboden versagten. Aehnlich wie letztere zeitigte auch die Besredka-Bouillon in 4 Fällen ein positives Ergebnis. Die Kultur im Minas-Ser war 3 mal positiv, während der Sy-Ser und der Sauton-Nährboden vollkommen versagten. Im ganzen konnte in allen Fällen, die bei den festen Nährböden negativ verlaufen sind, auch mit flüssigen Nährböden Wachstum nicht erzielt werden. Zeitlich überragte der Z-Nährboden die anderen Substrate etwas, er gestattete die Diagnose bereits nach 18,2 bezw. 29 Tagen.

Die Züchtungsversuche mit dem tuberkulösen Organmaterial haben somit eine deutliche Ueberlegenheit der festen Nährböden über die flüssigen Nährmedien mit Ausnahme der Besredka-Bouillon ergeben. Diese Tatsache

zeigte sich schon bei den positiven Milchproben, sie wurde bestätigt bei den mikroskopisch positiven Organproben, und sie wurde besonders deutlich bei den mikroskopisch negativen Organproben. Hinsichtlich Zuverlässigkeit und Wachstumszeit war der Z-Nährboden über die anderen festen Nährböden sowie die Besredka-Bouillon etwas überlegen.

### E. Kulturversuche mit Lungenschleimproben.

Die im Rahmen des freiwilligen Tuberkulosetilgungsverfahrens dem Institut eingeschickten Lungenschleimproben wurden zunächst mikroskopisch auf ihren Gehalt an Tuberkelbakterien untersucht. Die festeren Partikel, wie Schleim und Eiter, konnten direkt zu Ausstrichen verarbeitet werden, während die nur Flüssigkeit enthaltenden Proben durch ein dünnes Wattefilter filtriert und zentrifugiert wurden. Die mit dem Bodensatz angefertigten Ausstrichpräparate färbte ich nach Ziehl-Neelsen und untersuchte sie ebenso wie die anderen Proben bis zu 20 Minuten. Von den hierbei positiv befundenen Sputumproben wurden 20 auf Nährböden verimpft, während von den mikroskopisch negativen Proben in 100 Fällen Kulturversuche angesetzt wurden. Es handelte sich hierbei um Sputum von Tieren, deren klinischer Befund nach Angabe des Einsenders mit hoher Wahrscheinlichkeit den Verdacht des Vorhandenseins offener Lungentuberkulose erweckte.

Die von mir untersuchten Proben mußten naturgemäß so ausgewählt werden, daß die Menge des eingesandten Materials und der damit erhaltene Bodensatz für eine gleichzeitige Beimpfung aller 16 Nährbodenröhrchen ausreichte. Um in dieser Hinsicht möglichst gleichmäßige Verhältnisse zu schaffen, habe ich von den 2 Reagenzröhrchen desselben Nährbodens zunächst immer nur eines beimpft und fing, nachdem die ganze Reihe einmal durchgeimpft war, wieder von vorne an. Auch wurde in der Reihenfolge gewechselt, um eine Benachteiligung irgend eines Nährbodens zu vermeiden.

Aehnlich wie bei der Milch und bei den Organproben habe ich die Kulturen vom 11. oder 12. Tage nach der Verimpfung in Abschnitten von durchschnittlich 4 Tagen laufend mikroskopisch und makroskopisch untersucht. Bei den mikroskopisch positiven Sputa wurden diejenigen Proben, die innerhalb 30 Tagen mikroskopisch Wachstum nicht zeigten, als negativ angesehen. Hierbei muß allerdings betont werden, daß diese Frist für die Diagnosestellung im Laboratorium praktisch nicht immer als ausreichend anzusehen ist, da beim Vorhandensein von nur wenigen Tuberkelbakterien die Kultur unter Umständen nur sehr lang-

sam angeht. In den Versuchen von Graf mit mikroskopisch negativen Sputumproben zeigten vereinzelte Kulturröhrchen erst nach 35 bis 37 Tagen Wachstum. Ich habe deshalb bei den Versuchen mit den mikroskopisch negativen Proben die Beobachtungsfrist ebenfalls auf 37 Tage ausgedehnt.

Die Ergebnisse mit den 20 mikroskopisch positiven Sputumproben sind im folgenden zusammengestellt.

Tabelle VIII.

| Versuch Nr. | Petragnani | | Z-Nährbod. | | Amjno-Einährbod. | | Besredka-Bouill. | | Sy-Ser | | Minas-Ser | | Sauton mit Glyc. | | Sauton ohne Glyc. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma |
| 1 | 16 | 27 | 16 | 21 | 21 | 27 | 21 | 27 | — | — | — | -- | — | — | — | — |
| 2 | 16 | 31 | 14 | 21 | 21 | 27 | 16 | 27 | 16 | 27 | 21 | 27 | — | — | 21 | 27 |
| 3 | 16 | 31 | 14 | 21 | 16 | 21 | 21 | 27 | 14 | 21 | 14 | 21 | 14 | 27 | 16 | 27 |
| 4 | 13 | 19 | 13 | + | 13 | 25 | 13 | 19 | 19 | 25 | 13 | 19 | — | — | 19 | 25 |
| 5 | 14 | 22 | 22 | 25 | 22 | 25 | 22 | 25 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | 11 | 22 | 14 | 22 | 11 | 22 | 22 | 25 | — | — | 22 | 25 | 22 | 25 | 14 | 25 |
| 7 | 13 | 22 | 13 | 22 | 22 | 25 | 25 | 30 | -- | — | 14 | 22 | — | — | 22 | 30 |
| 8 | 26 | 32 | 12 | 19 | 19 | 26 | 19 | 26 | 26 | 32 | 26 | 32 | 26 | 32 | 26 | 32 |
| 9 | — | — | 14 | 21 | 14 | 21 | 14 | 21 | 22 | 25 | — | — | — | — | — | — |
| 10 | 14 | 25 | 14 | 21 | 14 | 25 | 14 | 21 | 14 | 21 | 22 | 25 | 14 | 21 | — | — |
| 11 | 25 | 32 | 11 | 24 | 19 | 24 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 12 | 11 | 25 | 11 | 25 | 19 | 25 | 25 | 30 | + | — | 19 | 28 | — | — | 19 | 28 |
| 13 | + | + | 19 | 25 | + | + | 19 | 28 | — | — | 19 | 28 | — | + | 25 | 28 |
| 14 | 19 | 28 | 25 | 28 | — | — | 19 | 28 | — | — | 25 | 28 | — | — | — | — |
| 15 | + | + | + | + | + | + | 12 | 19 | 25 | 28 | 25 | 28 | -- | — | 12 | 25 |
| 16 | + | + | + | + | + | + | 16 | 20 | 16 | 20 | 16 | 20 | 17 | 20 | 17 | 20 |
| 17 | 13 | 22 | 13 | 22 | 13 | 22 | 13 | 16 | 13 | 16 | 17 | 22 | 13 | 16 | 13 | 20 |
| 18 | 14 | 30 | 11 | 20 | 11 | 26 | 18 | 26 | 18 | 26 | 18 | 26 | 18 | 26 | 11 | 20 |
| 19 | 16 | 30 | 14 | 26 | 14 | + | 11 | 18 | 18 | 26 | 20 | 26 | — | + | 20 | 26 |
| 20 | 11 | 26 | 11 | 26 | 11 | 20 | 11 | 20 | 16 | 20 | 16 | 26 | 16 | 20 | 11 | 20 |
| Durchschnitt | 15,5 | 26,5 | 14,5 | 22,8 | 16,2 | 24,1 | 17,4 | 23,9 | 18,1 | 23,1 | 19,1 | 25,1 | 17,5 | 23,3 | 17,5 | 25,2 |

— = kein Wachstum, + = Verunreinigung.

Es ist somit als Gesamtergebnis bei allen Proben eine Reinkultur erzielt worden. Dies ist jedoch mit keinem von den Nährböden restlos gelungen. Am zuverlässigsten zeigte sich die Besredka-Bouillon, die in 19 von 20 Fällen eine positive Diagnose gestattete. In zweiter Linie kam der

Z-Nährboden mit 18 positiven Ergebnissen, sodann der Petragnani- und der Amino-Einährboden mit jeweils 16 positiven Resultaten. Die übrigen Nährmedien erwiesen sich als bedeutend weniger zuverlässig. Die Ausfälle auf den festen Nährböden wurden fast ausschließlich durch Verunreinigung der Nährböden, und zwar im wesentlichen infolge Schimmelbildung hervorgerufen Bei den flüssigen Nährböden dagegen trat dieses Moment nicht in so hohem Grade in Erscheinung, ihr Versagen beruhte offenbar auf ihrer geringeren Eignung für die Tuberkelbakterienkultur. Der Nachteil der Schimmelbildung auf den Einährböden ist auch von anderen Autoren beobachtet und mitgeteilt worden; sie haben aus diesem Grund die gleichzeitige Benützung fester und flüssiger Nährböden empfohlen.

Zeitlich waren geringe Unterschiede wiederum zugunsten des Z-Nährbodens vorhanden, in zweiter Linie kamen der Amino Einährboden, sodann die Besredka-Bouillon und schließlich der Petragnani-Nährboden. Bei den übrigen Nährflüssigkeiten war die durchschnittliche Wachstumsdauer ungefähr gleich. Sie betrug bis zur makroskopischen Diagnosestellung etwa 24—25 Tage.

Von den hundert verimpften Lungenschleimproben, bei denen die mikroskopische Untersuchung im Ausstrichpräparat negativ verlaufen war, konnte ich in 25 Fällen Tuberkelbakterien kulturell nachweisen. Die 25 positiven Ergebnisse sind in folgender Tabelle (s. S 33) zur Darstellung gebracht.

Die 25 positiven Ergebnisse sind nach der vorstehenden Uebersicht in keinem Fall mit einer einzigen Nährbodenart erzielt worden. Sie setzten sich im wesentlichen zusammen aus den Kulturen, die mit Petragnani-, Z-Nährböden und Besredka-Bouillon angelegt wurden. Diese 3 Nährböden haben jeweils 22 positive Resultate gezeitigt. Den 3 Versagern auf diesen Nährböden standen 5 Fehlergebnisse auf dem Amino-Einährboden gegenüber, während die sämtlichen Nährflüssigkeiten, Sy-Ser, Minas-Ser und Sauton-Nährböden durchweg in über 50 % der überhaupt tuberkelbakterienhaltigen Fälle Fehlresultate zeitigten.

Zeitlich ergab sich ein geringer Vorteil zugunsten des Z-Nährbodens, der durchschnittlich innerhalb 15,8 Tagen die Diagnose mikroskopisch und 25,1 Tagen makroskopisch gestattete. Im übrigen waren bei den zuverlässig befundenen Nährböden durchschnittlich 17—18 Tage für die mikroskopische und 25 –27 Tage für die makroskopische Diagnose erforderlich.

Bei den Versuchen mit den mikroskopisch negativen Sputumproben spielen Verunreinigungen, hauptsächlich infolge Schimmelbildung, eine noch erheblichere Rolle als

## Tabelle IX.

| Lfd. Nr. | Petragnani | | Z-Nährboden | | Amino-Einährboden | | Besredka-Bouillon | | Sy-Ser | | Minas-Ser | | Sauton mit Glyc. | | Sauton ohne Glyc. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma | Mi | Ma |
| 1 | | | 12 | 22 | 18 | 26 | 14 | 18 | — | — | 17 | 20 | — | — | 17 | 20 |
| 2 | 18 | 28 | 18 | 25 | 20 | 28 | 20 | 26 | 20 | 26 | 20 | 26 | 24 | 28 | 20 | 26 |
| 3 | 14 | 30 | 12 | 24 | 14 | 28 | 20 | 26 | — | — | 20 | 26 | — | — | — | — |
| 4 | 13 | 23 | 13 | 23 | 13 | 20 | 25 | 30 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | — | — | 19 | 26 | 26 | 32 | 26 | 32 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | 19 | 26 | — | — | 26 | 32 | 19 | 24 | — | — | 12 | 19 | 19 | 26 | 12 | 19 |
| 7 | 25 | 32 | 14 | 22 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | 26 | 34 | 22 | 32 | 22 | 32 | 26 | 32 | — | — | — | — | — | — | 26 | 32 |
| 9 | 17 | 30 | 17 | 26 | 12 | 26 | 22 | 26 | 22 | 26 | 22 | 26 | — | — | 22 | 26 |
| 10 | 12 | 26 | 11 | 20 | 11 | 22 | 11 | 18 | 18 | 22 | 18 | 22 | 12 | 18 | 18 | 22 |
| 11 | 11 | 18 | 11 | 18 | 11 | 22 | 15 | 22 | 15 | 22 | 15 | 22 | 15 | 22 | 15 | 22 |
| 12 | 25 | 34 | 18 | 27 | 18 | 27 | 22 | 27 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | 17 | 26 | 17 | 26 | 17 | 26 | 17 | 26 | 17 | 26 | — | — | — | — | — | — |
| 14 | 18 | 32 | 12 | 22 | — | — | 22 | 28 | — | — | 22 | 28 | — | — | — | — |
| 15 | 18 | 27 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 16 | 18 | 22 | 18 | 27 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 17 | 12 | 22 | 18 | 26 | 21 | 26 | 12 | 18 | 21 | 26 | 18 | 26 | 18 | 26 | 18 | 26 |
| 18 | + | + | + | + | + | + | 12 | 18 | 21 | 25 | — | — | — | — | 21 | 25 |
| 19 | — | — | 12 | 25 | 12 | 25 | 25 | 27 | 25 | 27 | 25 | 27 | — | — | — | — |
| 20 | 18 | 25 | 18 | 25 | 18 | 25 | 18 | 25 | — | — | 18 | 25 | — | — | 18 | 25 |
| 21 | 11 | 24 | 11 | 24 | — | — | 18 | 24 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 22 | 18 | 30 | + | + | 18 | 24 | 18 | 24 | 18 | 24 | — | — | — | — | — | — |
| 23 | 22 | 31 | 22 | 31 | — | — | 17 | 22 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 24 | 12 | 31 | + | + | 17 | 23 | 17 | 22 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 25 | 20 | 25 | 20 | 28 | 17 | 28 | 20 | 28 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Durchschnitt | 17,3 | 27,4 | 15,8 | 25,1 | 17,1 | 26,0 | 18,9 | 24,2 | 19,6 | 24,9 | 18,8 | 24,2 | 17,6 | 24 | 18,7 | 24,3 |
| Kein Wachst. | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 16 | 16 | 14 | 14 | 20 | 20 | 15 | 15 |
| Verunreinigt | 1 | 1 | 3 | 3 | 1 | 1 | | | | | | | | | | |

— = kein Wachstum, + = Verunreinigt.

bei den mikroskopisch positiven Proben. Am wenigsten störend war dieser Nachteil in den Nährflüssigkeiten, bei denen trotz oberflächlicher Schimmelbildung in der Regel doch noch die Diagnose gestellt werden konnte, während in den Einährböden der Schimmel fast immer das ganze Röhrchen ausfüllte.

In den Sputumversuchen trat deutlich die Ueberlegenheit der Einährböden und der Besredka-Bouillon über die Nährflüssigkeiten zutage. Am zuverlässigsten und hinsichtlich Wachstumsschnelligkeit am geeignetsten erwiesen sich der Z-Nährboden, der Petragnani-Nährboden und die Besredka-Bouillon.

## III. Ergebnisse und Zusammenfassung.

In vergleichenden Versuchen mit insgesamt 2448 Einzelkulturen wurde die Eignung von 8 verschiedenen neueren Nährböden für die künstliche Züchtung der Tuberkelbakterien geprüft. Bei den 3 festen Nährsubstraten handelte es sich um die heute bereits gebräuchlicheren Eiernährböden nach Petragnani und nach Hohn (= Z-Nährboden) sowie um den von Hohn neuerdings angegebenen Amino-Einährboden, der noch von keiner Seite nachgeprüft wurde. Als flüssige Nährböden wurden die Besredka-Bouillon, ferner 2 von Kirchner mitgeteilte serumhaltige Nährflüssigkeiten, der sogenannte Sy-Ser und der Minas-Ser und schließlich die einfache synthetische Nährflüssigkeit nach Sauton mit und ohne Glycerin gebraucht. Die Kirchner'schen Nährböden und die Sauton-Flüssigkeit wurden für diagnostische Zwecke im tierärztlichen Laboratorium bisher noch nicht benützt.

Die Wahl der genannten 8 Nährböden erfolgte nach dem Gesichtspunkt ihrer Brauchbarkeit hinsichtlich des Bakterienwachstums, wie sie von verschiedenen Autoren in mehr oder weniger umfangreichen Versuchen zum Teil bereits festgestellt worden ist, ferner unter Berücksichtigung der Einfachheit der Herstellung und der Wirtschaftlichkeit im Gebrauch. Von den geprüften festen Nährböden ist der Amino-Einährboden nach Hohn am einfachsten herzustellen. Er besteht aus einer Eimischung in leicht abgeänderter Lockemann'scher Nährflüssigkeit und einem Zusatz von Malachitgrün. Etwas umständlicher ist die Zubereitung des Petragnani-Nährbodens sowie des Z-Nährbodens nach Hohn. Unter den flüssigen Nährböden hat vor allem die Sauton-Flüssigkeit den Vorzug einfachster Herstellung und längster Haltbarkeit. Die Herstellung der Kirchner'schen Nährböden wird durch den erforderlichen Zusatz von sterilem Serum zu den Salzlösungen erschwert und ist deshalb etwas umständlicher als die Gewinnung der Besredka-Eibouillon, die nur aus einer alkalischen Eilösung in destilliertem Wasser mit Malachitgrünzusatz besteht. Neben dem Sauton-Nährboden haben auch die übrigen Nährflüssigkeiten den Vorzug längerer Haltbarkeit als die festen Eiernährböden, die wegen

der Gefahr des zu starken Austrocknens zweckmäßig innerhalb 2—3 Wochen zu verwenden sind.

Mit den genannten 8 Nährböden wurden 4 Versuchsreihen unter Verimpfung von Reinkulturen des Typus humanus, bovinus und gallinaceus, von tuberkelbakterienhaltigen Milchproben, von tuberkulösen Organen und von verdächtigen Lungenschleimproben angelegt. Mit Ausnahme der Reinkulturen wurden sämtliche Proben vor der Verimpfung mit 15 %iger Salzsäure zwecks Abtötung der Begleitbakterien vorbehandelt. Die Verimpfung aller Proben erfolgte jeweils auf 2 Nährbodenröhrchen derselben Art. Maßgebend für die Beurteilung der Ergebnisse war die Zuverlässigkeit hinsichtlich des Tuberkelbakterienwachstums, des Zeitraums, der bis zur mikroskopischen oder makroskopischen Feststellung des Wachstums erforderlich war, und die Möglichkeit einer Typendifferenzierung.

Die Versuche mit Reinkulturen sind bei sämtlichen 8 Nährböden positiv verlaufen. Am vorteilhaftesten war der Petragnani-Nährboden für die Unterscheidung der einzelnen Typen sowie hinsichtlich der Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien; die Reinkulturen zeigten durchschnittlich innerhalb 8 Tagen makroskopisches Wachstum. Eine ebenso schnelle Vermehrung erfolgte in der Besredka-Bouillon, im Sy-Ser und im Minas-Ser.

In den Versuchen mit 10 mikroskopisch tuberkelbakterienhaltigen Milchproben erwiesen sich nur die festen Nährböden sowie die Besredka-Bouillon als zuverlässig, während alle übrigen Nährböden nur 70—30 % positive Resultate ergaben. Das Wachstum war bei diesen Versuchen mikroskopisch frühestens innerhalb 10 Tagen, makroskopisch frühestens nach 14 Tagen feststellbar. Die kürzeste durchschnittliche Wachstumszeit hatte der Amino-Einährboden aufzuweisen, bei dem durchschnittlich nach 11,6 Tagen mikroskopisch und nach 18,8 Tagen makroskopisch Bakterienvermehrung nachgewiesen werden konnte. Wenig schlechter waren der Petragnani- und der Z-Nährboden sowie die Besredka-Bouillon.

In den Versuchen mit 20 tuberkulösen Organproben waren ebenfalls nur die festen Nährböden sowie die Besredka-Bouillon zuverlässig, sie zeitigten von 12 mikroskopisch tuberkelbakterienhaltigen Proben in allen Fällen Reinkulturen, während die übrigen Nährböden mehr oder weniger große Ausfälle aufwiesen. Letztere vermehrten sich noch bei den 8 mikroskopisch negativen Organproben, wobei mit den erstgenannten 4 Nährböden Tuberkelbakterien fünf mal kulturell festgestellt werden konnten. Der Sy-Ser und die beiden Sauton-Flüssigkeiten versagten hierbei vollkommen, sie zeigten in keinem Falle Wachstum. Zeit-

lich übertraf in diesen Versuchen der Z-Nährboden alle anderen, er ließ durchschnittlich nach 12,5 Tagen mikroskopisch und nach 18,6 Tagen makroskopisch Kulturwachstum erkennen.

Bei der Verimpfung von 20 mikroskopisch positiven Sputumproben zeigte sich die Besredka-Bouillon am zuverlässigsten. Sie gestattete in 19 Fällen eine positive Diagnose. In zweiter Linie kam der Z-Nährboden mit 18 positiven Ergebnissen, sodann der Petragnani- und der Amino-Einährboden mit jeweils 16 positiven Resultaten. Die Fehlergebnisse auf den festen Nährböden waren fast ausschließlich durch Verunreinigung infolge Schimmelbildung bedingt. Viel weniger bewährten sich die übrigen Nährböden, die zum Teil bis zu 50 % Ausfälle ergaben. Zeitlich waren geringe Unterschiede zugunsten des Z-Nährbodens vorhanden, der die Diagnose innerhalb 14,5 bezw. 22,8 Tagen gestattete. Die Differenz gegenüber den anderen Nährböden betrug bis zu 4 Tagen.

Bei den 100 verimpften Lungenschleimproben, bei denen die mikroskopische Untersuchung im Ausstrichpräparat negativ verlaufen war, konnten Tuberkelbakterien in 25 Fällen kulturell nachgewiesen werden. Auch diese 25 positiven Resultate setzten sich im wesentlichen zusammen aus den Kulturen, die mit Petragnani- und Z-Nährböden sowie Besredka-Bouillon angelegt waren. Diese 3 Nährböden haben jeweils 22 positive Ergebnisse gezeitigt. Der Amino-Einährboden versagte in 5 Fällen, während die sämtlichen Nährflüssigkeiten durchweg über 50 % Fehlresultate ergaben. Zeitlich war das Ergebnis beim Z-Nährboden am günstigsten. Er gestattete die Diagnose durchschnittlich innerhalb 15,8 Tagen durch mikroskopische Feststellung des Wachstums, während auf den anderen Nährböden im Durchschnitt 17–18 Tage hierfür erforderlich waren. Die makroskopische Diagnose konnte nach 25 bis 27 Tagen gestellt werden.

Es ergaben somit die festen 3 Nährböden sowie die Besredka-Bouillon in allen Versuchen die besten Resultate. Am meisten zu empfehlen wären für praktische Zwecke der Z-Nährboden oder der Petragnani-Nährboden in Kombination mit der Besredka-Bouillon. Diese Kombination ist vor allem deshalb zu befürworten, weil bei Verschimmelung von Proben auf den festen Nährböden die Diagnose vereinzelt doch noch mit Hilfe der Besredka-Kultur gestellt werden konnte. Einer geringgradigen Ueberlegenheit des Z-Nährbodens hinsichtlich der Sicherheit des Bakterienwachstums und dessen Schnelligkeit steht die leichtere Erkennungsmöglichkeit der Kolonien auf dem Petragnani-Nährboden sowie die Möglichkeit einer leichten

Typendifferenzierung gegenüber. Der Amino-Einährboden bedeutet für die Tuberkulosediagnostik im tierärztlichen Laboratorium keinen Fortschritt. Für diese Zwecke kommen die geprüften Nährflüssigkeiten infolge ihrer Unzuverlässigkeit überhaupt nicht in Frage. Die günstigen Ergebnisse Kirchners konnten somit nicht bestätigt werden. Die Versuche mit der Sauton-Flüssigkeit haben in keinem Fall zur Feststellung sogenannter „Viridansvarianten" (L. Lange) geführt.

## Zusammenfassung.

1. Das Ergebnis läßt sich in der Hauptsache dahin zusammenfassen, daß irgend einem der unter Anwendung gleicher Technik eingehend geprüften 8 Nährböden eine alle anderen weit überragende Bedeutung nicht zukommt. Eine für diagnostische Zwecke hinreichende Sicherheit erscheint nur bei kombinierter Anwendung verschiedener Nährböden gewährleistet.

2. In ungefähr gleichem Maße befriedigten bei Würdigung aller Vor- und Nachteile der Z-Nährboden nach Hohn, der Petragnani-Nährboden sowie die Besredka-Bouillon. Bei mikroskopisch negativen Sputumproben, deren Untersuchung mittels Kulturversuchs praktisch im wesentlichen in Frage kommt, haben diese Nährböden zu 25 % der Fälle durchschnittlich innerhalb 16—18 Tagen durch mikroskopische und innerhalb 24—28 Tagen durch makroskopische Feststellung eine positive Diagnose gestattet.

3. Der Amino-Einährboden nach Hohn war dem Z-Nährboden unterlegen. Nicht bewährt haben sich die Kirchner'schen Nährflüssigkeiten Sy-Ser und Minas-Ser sowie die Sauton'sche synthetische Flüssigkeit mit und ohne Glycerin. Sie zeigten bereits Versager bei Beimpfung mit mikroskopisch positiven Milch- und Organproben, und sie erwiesen sich ganz unzuverlässig in den Versuchen mit negativen Organ- und Sputumproben.

## Schriftverzeichnis.


1. Bertrand, G.: L'emploi des cultures dans le diagnostic de la tuberculose. Les avantages du milieu de Petragnani. Ann. méd. vét. 73, 337 (1928).
2. Besredka, A. und F. Jupille: Ein neuer Nährboden für Tuberkelbazillen. Zeitschr. f. Tuberkulose 21, 53 (1913).
3. Dorset, M.: Americ. medicine 1902, 555. Zit. n. Cornet u. Kossel: Tuberkulose. Handb. d. path. Mikroorgan. 2. Aufl. 5, 391 (1913).
4. Graf, G.: Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien für die Diagnosestellung der offenen Tuberkulose im Rahmen des freiwilligen Tuberkulosetilgungsverfahrens mit den Nährböden nach Petragnani und Besredka. Diss. Gießen 1933.
5. Helm, R.: Die Typendifferenzierung der Tuberkelbazillen durch den Kulturversuch nach Wolters und Dehmel. Zbl. f. Bakt. I. Abtlg. Orig. 127, 73 (1932).
6. Helm, R.: Allgemeines über den Erreger der Säugetiertuberkulose. Ergebn. d. allgem. Path. 25, 563 (1931).
7. Hohn, J.: Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. Zbl. f. Bakt. I. Abtlg. Orig. 98, 460 (1926).
8. Hohn, J.: 4 Jahre Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. Zbl. f. Bakt. I. Abtlg. Orig. 113, 366 (1929).
9. Hohn, J.: Der Einährboden zur Kultur des Tuberkelbazillus (Amino-Einährboden). Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 127, 59 (1932).
10. Isabolinski, M. und W. Gitowitsch: Ueber die Gewinnung von Tuberkelbazillenreinkulturen. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 94, 241 (1925).
11. Karsten: Ueber den Wert des Säureeinwirkungsverfahrens und der Einährböden für die Gewinnung von Reinkulturen von Tuberkelbakterien und für den Nachweis dieser Keime in eingesandten Lungenschleim- und Milchproben. Tierärztl. Wschr. 37, 668 (1928).
12. Karsten und Frisch: Ueber den Nachweis von Tuberkelbakterien in Lungenschleimproben unter Berücksichtigung neuer Methoden. Dtsch. tierärztl. Wschr. 39, 645 (1930).
13. Kirchner, O.: Die Leistungsfähigkeit der Tiefenkultur des Tuberkelbazillus bei Verwendung besonders geeigneter flüssiger Nährböden. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 124, 403 (1932).
14. Klimmer, M.: Die Uebertragung der Geflügeltuberkulose auf Menschen und das Vorkommen von Tuberkelbakterien in Hühnereiern. Berl. tierärztl. Wchr. 47, 702 (1930).
15. Koch, Robert: Die Aetiologie der Tuberkulose. Berl. kl. Wschr. 1882, 221, Zit. nach Möllers[21]).
16. Lange, L.: Die Tuberkelbazillen. Zbl. f. Bakt. I. Abt. 127, 10 (1932).
17. Lange, L.: Anreicherungsverfahren. Handb. d. path. Mikroorgan. n. Kolle, Kraus, Uhlenhuth. 3. Aufl. 10, 295 (1930).
18. Lockemann, G.: Welche Nährstoffe sind für das Wachstum der Tuberkelbazillen unbedingt notwendig? Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 83, 420 (1919).
19. Löwenstein, E.: Reinzüchtung des Tuberkelbazillus. Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden 1925.

20. **Lubenau:** Hyg. Rundschau **1907**, 1455.

21. **Möllers, B.:** Die Tuberkelbazillen. Handb. d. path. Mikroorgan. v. Kolle, Kraus, Uhlenhut, 3. Aufl. 5, II, 615 (1928).

22. **Nocard u. Roux:** Ann. Inst. Pasteur, **1**, 19 (1887). Zit. n. Cornet u. Kossel: Tuberkulose. Handb. d. path. Mikroorgan. 2. Aufl. 5, 291 (1913).

23. **Pawlowski:** Ann. Inst. Pasteur, **1888**, 303, Zit. n. Cornet u. Kossel: Tuberkulose. Handb. d. path. Mikroorgan. 2. Aufl. 5, 391 (1913).

24. **Petragnani, G.:** Aleune utili modificazioni al mio terreno ed alla tecnica per l'isolamenato in coltura pura dei bacilli di Koch dagli escreti e da altri materiali tubercolari. Boll. Ist. sieroterap. Milan. **5**, 173 (1926). Ref. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. **85**, 540 (1927).

25. **Petroff, S. A.:** A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle-bazilli directly of the sputum and feces. J. of exp. med. **21**, 38 (1915).

26. **Presch, L.:** Ein Beitrag zur Züchtung des bovinen Tuberkelbazillus auf Einährböden und zur Frage der Eignung dieses Verfahrens beim Tuberkulosetilgungsverfahren. Zschr. f. Inf.-Kr. d. Haust. **40**, 137 (1932).

27. **Richters:** Die Empfänglichkeit des Huhnes für humane und bovine Tuberkelbazillen. Z. Vet. kde. **39**, 161 (1927).

28. **Sauton:** Zit. nach **Lange** [16]).

29. **Sickmüller, E.:** Zur Kultur des Tuberkelbazillus. D. tierärztl. Wschr. **38**, 223 (1930).

30. **Smith, H. E.:** Zit. nach **Möllers** [21]).

31. **Sumyoshi, J.:** Beitrag zur Reinzüchtung der Tuberkelbazillen aus dem Sputum. I. u. II. Mitteilung Ztschr. f. Tb. **39**, 333 (1924) und **40**, 338 (1924).

32. **Uhlenhuth, P. u. Xylander:** A. a. d. Kais. Ges.-Amt **32**, H. 1 (1909). Zit. n. Cornet u. Kossel: Tuberkulose Handb. d. path. Mikroorgan. 2. Aufl. 5, 391 (1913).

33. **William u. Durdick:** Zit. nach **Hohn** [6]).

34. **Wolters, K. L.:** Zur Züchtung und Differenzierung der Tuberkelbazillen. Teil I. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. **116**, 279 (1930).
Teil II, „ „ „ I. „ „ **117**, 412 (1930).

35. **Wolters, K. L.:** Vergleichende Züchtungsversuche von bovinen Tuberkelbakterien auf Z-Einährböden nach Hohn und Malachitgrün-Einährböden nach Petragnani unter Berücksichtigung der Typendifferenzierung. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. **124**, 199 (1932).

36. **Zechnowitzer:** Zit. nach **Hohn** [6]).

## Lebenslauf.

Ich, Oskar Rupp, wurde am 5. 12. 1909 in Gemmingen, Baden, als Sohn des Landwirts Adolf Rupp geboren. Nach Besuch der Volksschule trat ich im Jahre 1919 in die Realschule in Eppingen ein und legte dort im Jahre 1925 die Einjährigenprüfung ab. Anschließend besuchte ich die Oberrealschule in Heilbronn a. N. und erlangte dort im Februar 1928 das Zeugnis der Reifeprüfung. Vom Sommersemester 1928 ab weilte ich zum Studium der Tierheilkunde an der Universität München. Nach Bestehen der tierärztlichen Vorprüfung im Wintersemester 1930 setzte ich meine Studien zuerst an der Universität in Gießen und an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover fort. Im Sommersemester 1932 kehrte ich nach München zurück, wo ich im Februar 1933 die tierärztliche Fachprüfung bestand. Vom 20. Februar 1933 bis 1. Juni 1933 beschäftigte ich mich im Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br. mit den Versuchen zu vorliegender Arbeit.